UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LOS MARCADORES DE PROLIFERACION Y DIFERENCIACION CELULAR EN LOS ASTROCITOMAS MALIGNOS SUPRATENTORIALES

FERNANDO JIMENEZ ARROSAGARAY
MADRID 1999

INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

DON SANTIAGO COCA MENCHERO, Profesor Titular del Departamento de ANATOMIA PATOLOGICA de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

INFORMA: Que el trabajo titulado "Estudio de los marcadores de proliferación y diferenciación celular, en los astrocitomas malignos supratentoriales", realizado bajo mi dirección por D. Fernando Jiménez Arrosagaray, reúne las condiciones necesarias para optar al grado de Doctor.

Vº Bº
EL TUTOR (2)

Fdo.:_____
(Fecha y firma)

DNI

El Director de la Tesis

Fdo.: S. Coca 15/03/95
(Fecha y firma)

DNI 70.562709 C

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

DON JULIAN SANZ ESPONERA, CATEDRATICO Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLOGICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

INFORMA: Que una vez examinado el Trabajo presentado por D. FERNANDO JIMENEZ ARROSAGARAY, titulado "Estudio de los marcadores de proliferación y diferenciación celular, en los astrocitomas malignos supratentoriales", dirigido por el Prof. D. Santiago Coca Menchero, este Departamento da su conformidad para que dicho trabajo sea leído y defendido en público con vistas a su aprobación como Tesis Doctoral.

Fecha reunión
Consejo Departamento

20. Abril 1999

El Director del Departamento

Fdo.: Prof. Sanz
(Fecha y firma)
20/04/99

A Martos,

con quien tuve la suerte de aprender, y

de compartir tantas horas de microscopio.

AGRADECIMIENTOS

Al Hospital del Aire, tanto como Institución, pues ha sabido crear un clima de docencia e investigación necesarios para emprender este tipo de estudios, dentro del marco de la aprobación de líneas de investigación, como a los diversos Servicios y personas que han colaborado:

Al Servicio de Anatomía Patológica, donde tuve el honor y la suerte de aprender la Especialidad; con los Drs Moreno Muro, Martos, Coca, De Agustín, e Izquierdo, que constituyen un gran ejemplo humano y científico. Quiero destacar al Prof. Santiago Coca, que además de dirigirme la Tesis ha sido el impulsor de la misma, y que con su dedicación y enseñanzas me ha servido de guía en la iniciación investigadora. Y a la Dra. Izquierdo, de quien aprendí la técnica de análisis morfocitométrico.

Así mismo, quiero recordar a los patólogos Raul y Pepe López, que aún no siendo de este Hospital, sí forman parte entrañable de esta Casa, y también me ofrecieron sus conocimientos y colaboración desinteresada.

A Juan Carlos Puente, compañero de residencia, por su estímulo y ayuda. Y a los técnicos y personal del Servicio: Mª Teresa, Teresa, Chema, Rosa, Alicia, y en especial a Andrés Moclán, con quien pasé numerosas tardes trabajando en el laboratorio.

A los Servicios de Neurocirugía y Oncología, que me ofrecieron su colaboración en el aspecto más problemático que me encontré: el seguimiento del paciente.

A la Srta. Alicia, del Servicio Central de Datos, que gracias a su amabilidad me hizo más sencilla la recogida de datos clínicos.

A la Prof. Encarna Rubio, del Departamento de Bioestadística de la Facultad de Medicina de Zaragoza, por sus enseñanzas, consejos y orientación en el tratamiento y análisis de los datos.

A mis actuales compañeros de trabajo, en el Hospital Militar de Zaragoza, por su comprensión y disposición, para que haya podido llevar a término la tarea emprendida.

A mi hermano Miguel, por su dedicación y contribución a las tareas informáticas de maquetación y presentación del Trabajo.

INDICE

INTRODUCCION

1. CONSIDERACIONES ANATOMICAS GENERALES.

Expondremos a continuación las características anatómicas e histológicas básicas, con especial referencia a la glía y su desarrollo, necesarias para una mejor aproximación a la histopatología y comportamiento biológico de los tumores malignos cerebrales de estirpe glial.

1.1. DESARROLLO EMBRIONARIO DE LA GLIA.

La glia constituye el elemento de sostén del Sistema Nervioso Central (SNC).[325,332]

El Desarrollo del Sistema Nervioso, como refieren diversos autores,[132,162,230] hace su aparición muy precozmente: La primera manifestación tiene lugar hacia el día 18, consistiendo en un engrosamiento ectodérmico longitudinal, denominado «placa neural».

La placa neural está formada inicialmente por una capa de células ectodérmicas «neuroepiteliales». Seguidamente estas células proliferan formándose varias capas de células germinales, que producen crecimiento y elevación de los bordes de la placa, que al fusionarse forman el «tubo neural», que queda situado por debajo del ectodermo.

Las células germinales son pluripotenciales, y se diferenciarán en dos líneas celulares: neuronal y neuroglial[114,162] (Graf. 1). Las células de la parte media de la placa neural también proliferan, y se situan entre el ectodermo y el tubo neural, dando lugar a la «cresta neural».

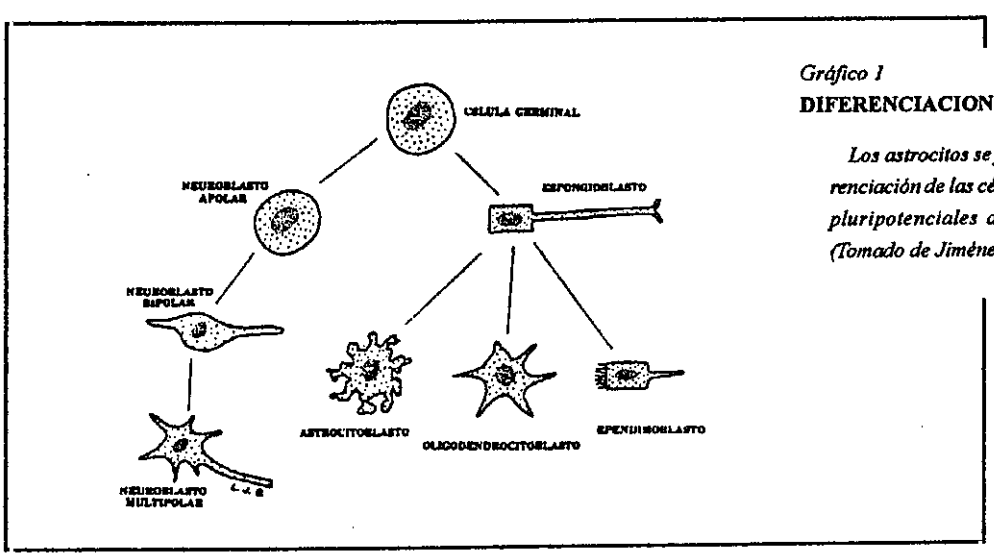


Gráfico 1
DIFERENCIACION ASTROGLIAL

Los astrocitos se forman por diferenciación de las células germinales pluripotenciales del tubo neural. (Tomado de Jiménez. Ref. 162)

Al tiempo que proliferan, las células neuroepiteliales del tubo neural sufren cambios morfológicos consistentes en el desarrollo de expansiones citoplasmáticas radiales, con lo que aumenta el espesor de la pared en detrimento de la luz tubular, formándose el «epéndimo primitivo».

Durante el desarrollo radial de las células neurogliales tiene lugar la aparición en su citoplasma de los filamentos intermedios de «proteina gliofibrilar ácida» (GFAP),[54] que constituye un marcador de diferenciación neuroglial.[54,263]

La glía radial se extiende desde la zona ventricular hasta la pía madre; identificándose la mayoría de sus somas en la región subventricular.[54] Las prolongaciones citoplasmáticas gliales sirven de guía en la emigración de los neuroblastos (células precursoras neuronales), que suben en oleadas hacia la periferia, durante la formación de la zona cortical.[166,314]

Mientras las fibras de la glía se disponen orientadas perpendicularmete a la pía, la mayoría de las «neuronas emigrantes» se observan dispuestas en hileras horizontales dentro de las zonas subventricular e intermedia. De manera que la corteza que se va formando muestra una organización laminar; al tiempo que las neuronas ya maduras aparecen dispuestas en columnas.

La coteza va aumentando su espesor; y las células gliales radiales (espongioblasto polar primitivo), una vez que han servido de guía para los neuroblastos, pierden su expansión citoplasmática, que se fragmenta y disuelve, evolucionando a astrocitos.[54,227] Sin embargo los astrocitos también se originan en la zona subependimaria a partir de las células germinales indiferenciadas.[130]

Según las descripciones de Gray,[132] y de Moore,[230] en el tubo neural podemos diferenciar varias capas:

- La capa de células ependimarias o ventricular: Es la más interna y delimita la luz tapizando el epéndimo, al tiempo que envía prolongaciones citoplasmáticas de sus células hacia la periferia, actuando así también como elemento de sostén. La mayoría de las células ependimarias son GFAP-negativas, ya que en su maduración van perdiendo los gliofilamentos, que están presentes en sus células precursoras: las espongioblásticas GFAP-positivas de la capa subependimaria.[38]

La presencia de GFAP en las células en mitosis de la capa ventricular, a las doce semanas de desarrollo embrionario, indica que las células de la línea astrocítica están siendo generadas mientras aún tiene lugar la neurogénesis.[54] Entre ellas existe otra variedad celular, denominada tanicitos, que probablemente deriven de la glía radial.[290]

- La capa subventricular (subependimaria): Es la más gruesa y contiene las «células germinales». Estas células son pluripotenciales[114,162] y se diferencian tanto hacia neuroblastos, cuya maduración final son las neuronas; como hacia espongioblastos (glía radial), que son el origen de los diversos elementos celulares neurogliales:[130,260] astrocitos, con sus variedades: tipo 1 (protoplásmico) y tipo 2 (fibrilar); y oligodendrocitos. La mayoría de las células de la glía radial tienen sus somas en la zona subventricular, y extienden sus prolongciones a través de la zona intermedia hasta la piamadre.[54]

Estudios in vitro del desarrollo de la glía ponen de manifiesto dos líneas celulares: una, la que da lugar a los astrocitos de la clase 1; y la otra a un progenitor, «O-2A», que puede originar tanto a los oligodendrocitos como a los astrocitos de la clase 2.[242,260]

- Y la capa marginal o «zona intermedia»: Inicialmente es acelular, y sirve de área de tránsito neuronal durante la migración y formación de la corteza. Al final del desarrollo da lugar a la «sustancia blanca». La zona más externa o cortical superficial, acumula gran número de neuronas emigradas, y por su aspecto macroscópico se denomina «sustancia gris» (Graf. 4).

1.2. ELEMENTOS CONSTITUYENTES DE LA GLIA.

La glia está constituida por las células neurogliales (macroglía), de origen neuroectodérmico, cuyo desarrollo ha sido referido; y por otra variedad de células denominadas «microglía», que no son de origen ectodérmico, sino mesodérmico,[129,155] de tipo monocito/macrofágico presentadoras de antígeno, que expresan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de la clase II.[325]

LA MACROGLIA (NEUROGLIA): La constituyen los astrocitos, los oligodendrocitos y las células ependimarias; procedentes todos ellos del desarrollo y diferenciación glial de las células neuroectodérmicas del tubo neural:

- ASTROCITOS: Son células con múltiples prolongaciones citoplasmáticas delgadas que irradian en todas direcciones. La morfología estrellada no se aprecia bien en los cortes histológicos convencionales teñidos con hematoxilina y eosina (Fig. 2A), pero puede evidenciarse mediante tinciones especiales, como las referidas por Cajal y Castro,[43] o más modernamente mediante técnica de inmunoperoxidasa para marcaje de GFAP.[54,80] Su núcleo es redondeado u ovalado, con un patrón de cromatina laxa.

Los astrocitos no sólo proporcionan una trama de sostén para los elementos neuronales, sino que extienden sus prolongaciones pediculares alrededor de los capilares para crear una barrera entre la sangre y el encéfalo («barrera hematoencefálica»). En la superficie encefálica, forman la «glía limitante», que lo separa de las leptomeninges.

Aunque se han identificado dos tipos de astrocitos, la microscopía electrónica ha demostrado que no hay diferencias estructurales sustanciales entre ambos tipos de neuroglía:[100]

- Astrocitos Protoplásmicos: son más evidentes en la sustancia gris; y muestran prolongaciones finas y largas que contienen pocos haces de GFAP.

- Astrocitos Fibrilares (antes llamados Fibrosos[43]): son más evidentes en la sustancia blanca; y muestran prolongaciones citoplasmáticas ricas en haces de GFAP.

Existe otra variedad de astrocito que aparece sólamente en condiciones patológicas,[193] denominado gemistocítico, caracterizado morfológicamente por abundante citoplasma eosinófilo y núcleo pequeño y uniforme.

- OLIGODENDROCITOS: Muestran un citoplasma que contiene un halo claro perinuclear por artefacto del procesado histológico y la escasez de elementos citoesqueléticos.[325] Su núcleo es redondeado, y la cromatina moderadamente densa.

Mielinizan los axones de las células nerviosas.

Existe una variedad de oligodendrocitos que expresan GFAP, denominados «oligodendrocitos gliofibrilares (GFOC)», identificados en tumores mixtos oligoastrocitarios.[191]

- EPENDIMOCITOS: Son células cúbicas; algunas de ellas contienen formaciones ciliadas por microscopía optica. Su núcleo es pequeño y ovalado, de disposición basal, y contiene cromatina densa. Revisten las cavidades encefálicas y medular. Están en contacto con el líquido cefalorraquídeo.

Muestran positividad para la proteina S100,[263] y positividad variable para GFAP y EMA.[349]

LAS CELULAS MICROGLIALES: Son células dendríticas presentadoras de antígeno.[325] Es difícil identificarlas en las preparaciones histológicas habituales, teñidas con hematoxilina y eosina, donde sólo aparecen como núcleos en forma de bastón, sin bordes citoplasmáticos apreciables. Existen diversas técnicas clásicas para su identificación, entre las que destaca el método del carbonato argéntico amoniacal de del Río-Hortega.[266] Sus prolongaciones citoplasmáticas pueden ponerse de manifiesto con técnicas especiales de inmunohistoquímica para lecitina.[38,325]

1.3. DESARROLO Y ESTRUCTURAS ANATOMICAS CEREBRALES.

Siguiendo las descripciones de Goss,[132] en el tubo neural se distinguen dos partes, una caudal que será la futura médula espinal, y otra cefálica ancha que es el primer esbozo del encéfalo. El encéfalo tiene un crecimiento desigual, y origina precozmente tres regiones (Graf. 2):

- El Rombencéfalo, situado en la porción más caudal, que dará origen al cerebelo, protuberancia y al bulbo raquídeo.
- El Mesencéfalo, que dará lugar, entre otras estructuras, a los pedúnculos cerebrales y tubérculos cuadrigéminos. Y que junto a la protuberancia y el bulbo constituyen el «Tronco del encéfalo».
- Y el Prosencéfalo, situado en la porción cefálica, que dará lugar en el adulto al «cerebro».

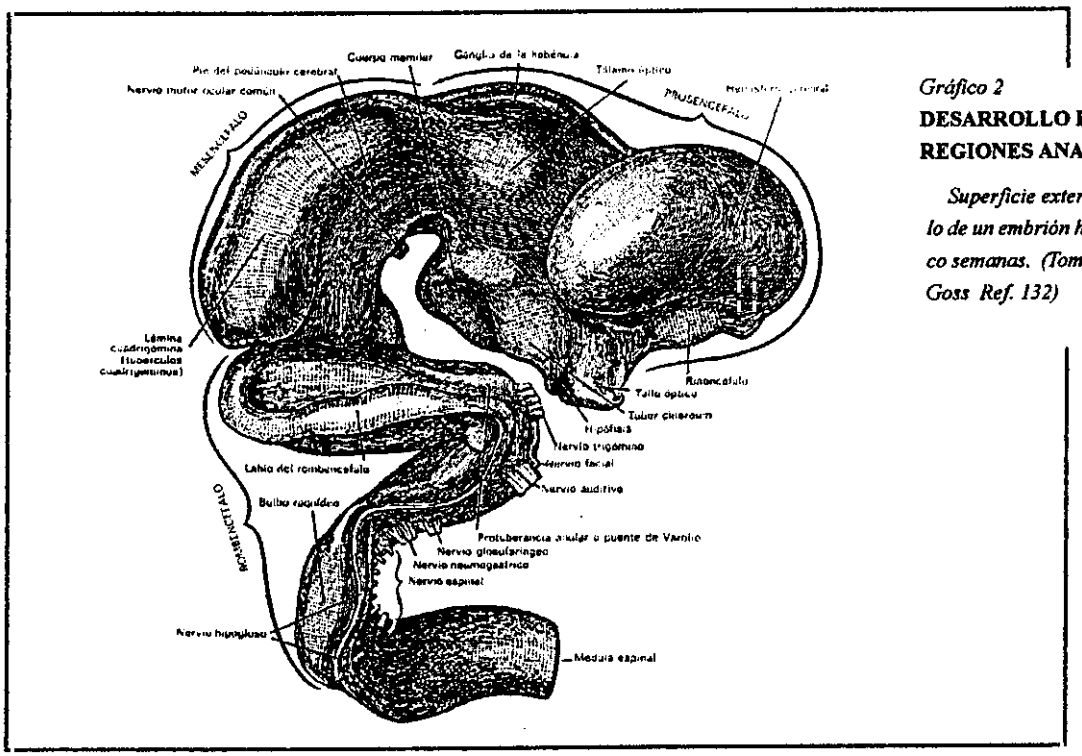


Gráfico 2
DESARROLLO ENCEFALICO REGIONES ANATOMICAS

Superficie externa del encéfalo de un embrión humano de cinco semanas. (Tomado de His, en Goss Ref. 132)

En el Prosencéfalo del embrión se distinguen dos regiones: Una posterior o Diencéfalo, a partir del cual se forman, entre otras estructuras, el tálamo, hipotálamo, la epífisis, el infundíbulo y la neurohipófisis. Y otra anterior o Telencéfalo, en el que se forman dos dilataciones denominadas vesículas cerebrales, cuyas paredes delimitan unas cavidades denominadas «ventrículos laterales», comunicados a través del agujero de Monro con el ventrículo medio del diencéfalo o «tercer ventrículo». Estas vesículas son el esbozo de los «hemisferios cerebrales», que se encuentran separados por la hendidura interhemisférica; y unidos en profundidad a través del cuerpo calloso.

Cada hemisferio tiene tres regiones fundamentales: el rinencéfalo, la eminencia glanglionar (con el cuerpo estriado), y el neopalio, que constituye la mayor parte del hemisferio. La pared interna del hemisferio protuye en el ventrículo lateral, constituyendo el esbozo primario del «hipocampo».

Los hemisferios cerebrales aumentan con rapidez de volumen, cubriendo el resto de las estructuras encefálicas. El crecimiento es mayor en las zonas periféricas, produciéndose plegamientos, con aparición de cisuras o surcos que separan «circunvoluciones».

En la superficie externa del hemisferio, se observan tres cisuras principales: la cisura de Silvio, la cisura de Rolando, y la cisura Perpendicular externa. Estas cisuras nos permiten dividir cada hemisferio en cuatro regiones o «lóbulos»: (Graf. 3) Por delante el lóbulo Frontal, por atrás el lóbulo Occipital, por abajo el lóbulo Temporal, y por arriba el lóbulo Parietal. A estos lóbulos hay que añadir aún otro, denominado lóbulo De la ínsula, situado profundamente, como fondo de la cisura de Silvio.

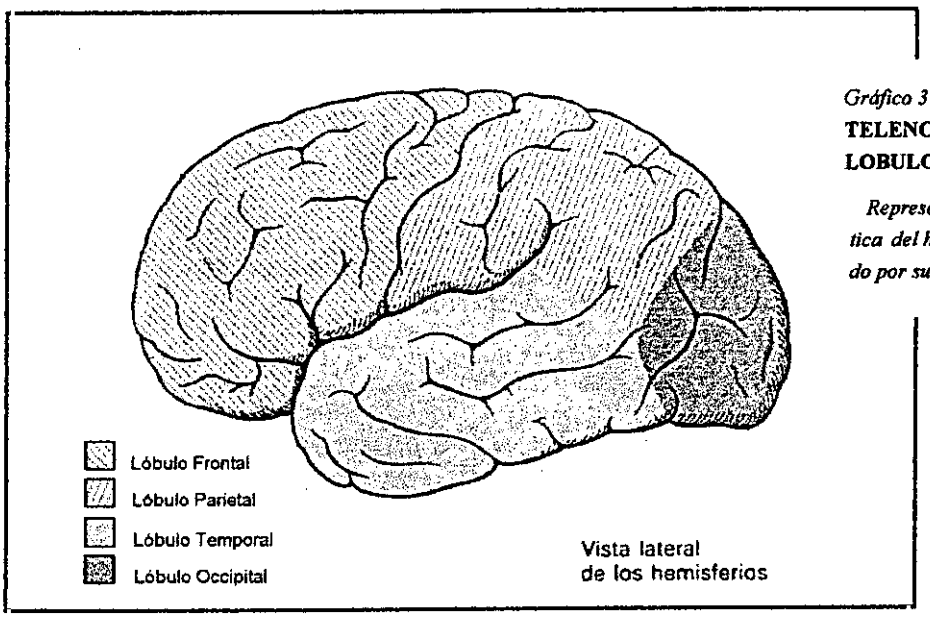


Gráfico 3
TELENCEFALO
LOBULOS CEREBRALES

Representación esquemática del hemisferio izquierdo por su cara lateral.

Tras el tallado cerebral, mediante cortes frontales, pueden distinguirse macroscópicamente, en las diversas secciones, áreas y estructuras de «sustancia gris», y otras zonas de «sustancia blanca»(Graf. 4).

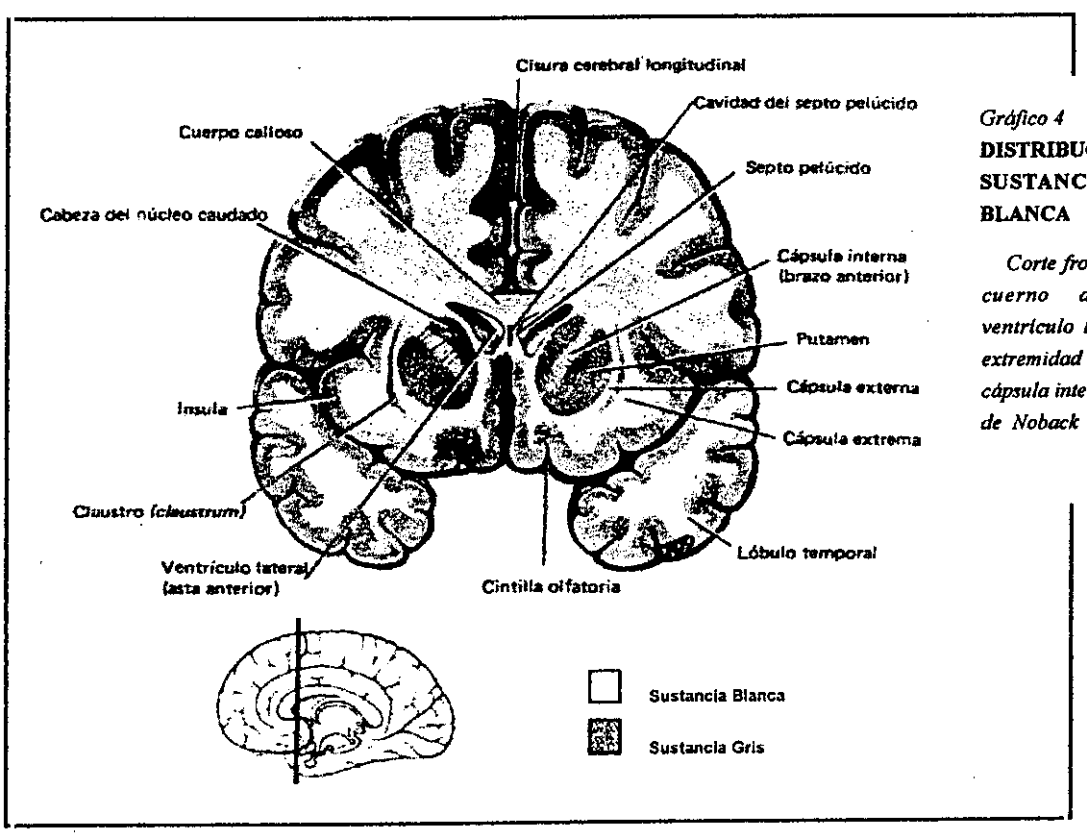


Gráfico 4
DISTRIBUCION DE LAS SUSTANCIAS GRIS Y BLANCA

Corte frontal a nivel del cuerno anterior del ventrículo lateral y de la extremidad anterior de la cápsula interna. (Adaptado de Noback Ref. 241)

Como señalan Fuller y Burger:[111] La sustancia gris está constituida en gran parte por los cuerpos neuronales y sus procesos dendríticos, que en la corteza cerebral muestran una disposición característica: vertical y en capas. Otros constituyentes son los axones neuronales, las células gliales astrocitarias y oligodendrocitos, microglía y elementos vasculares. El tejido conectivo es muy escaso, y está confinado en la adventicia vascular. En esta sustancia, en especial en el cortex, los astrocitos son fundamentalmente de tipo protoplásmico.

La sustancia blanca (Fig. 2A) está constituida fundamentalmente por los procesos axonales con su vaina de mielina, rodeados por los oligodendrocitos, que en ocasiones aparecen dispuestos en columnas. En general, la distribución celular es uniforme y de mediana densidad, observándose los núcleos de los astrocitos, que también son abundantes, con morfología vesiculosa en contraste con los oligodendrocitos, que son de menor tamaño y más oscuros. En la sustancia blanca los astrocitos son de tipo fibrilar, y mediante marcaje con GFAP se pueden visualizar sus largas prolongaciones citoplasmáticas, que alcanzan la pared de los vasos. Otros elementos presentes son la microglía y los vasos capilares; y de manera ocasional, pueden encontrarse neuronas, especialmente en el lóbulo temporal.[38]

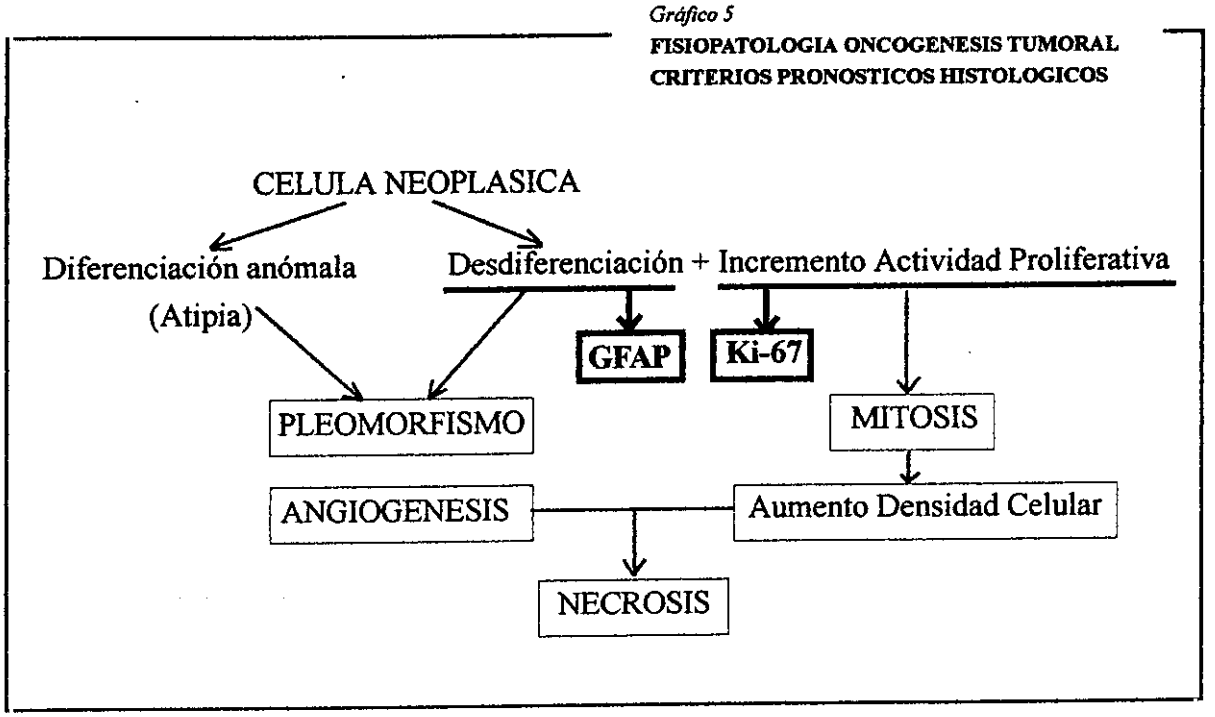
2. TUMORES ASTROCITARIOS MALIGNOS.

2.1. CONCEPTO Y CLASIFICACION.

Los tumores astrocíticos malignos son neoplasias de estirpe glial, que tienen su origen en la desdiferenciación del astrocito maduro,[99] generalmente de tipo fibrilar de la sustancia blanca, y con menor frecuencia de tipo protoplásmico.[100]

La desdiferenciación significa la pérdida de las estructuras propias de la célula adulta, retrocediendo en la escala madurativa hasta equipararse a una célula indiferenciada.[100] Al tiempo pueden producirse maduraciones anómalas, apareciendo células atípicas; así como un aumento en la capacidad proliferativa celular (Graf. 5).

Gráfico 5
FISIOPATOLOGIA ONCOGENESIS TUMORAL
CRITERIOS PRONOSTICOS HISTOLOGICOS



El proceso de «transformación maligna» tiene lugar a través de diferentes caminos, como resultado de progresivas alteraciones genéticas, que pueden acontecer de forma gradual o también alcanzar su máxima expresión desde su inicio («de novo»).[87,100,199,356] La consecuencia de la presencia de desdiferenciación y/o atipia en la neoformación tumoral es el concepto de «Astrocitoma Maligno» esbozado ya en 1950 por Ringertz[265] y Kernohan[176], o de «Astrocitoma Anaplásico» de Burger y col.[41]

Las primeras clasificaciónes de Tumores Gliales fueron las de Tooth[334] en 1912, y la de Bailey y Cushing[11] en 1926. Dichos autores refieren estos tumores de acuerdo con el desarrollo embrionario de la glía, desde el espongioblasto, pasando por el astroblasto, hasta el astrocito, según la célula en que tiene lugar la transformación neoplásica. Clasificándolos de esta manera en Espongioblastoma Multiforme, Astroblastoma y Astrocitoma.

En 1949, Kernohan y colaboradores,[176,328] establecen cuatro grados de «desdiferenciación»:

- Grado 1: Astrocitoma bien diferenciado.
- Grado 2: Se añade la presencia de una gran densidad celular con anaplasia (desdiferenciación y atipia).
- Los Grados 3 y 4 se correspondían con el Glioblastoma Multiforme; y esta subdivisión se basaba en el número de mitosis, grado de pleomorfismo, porcentaje de astrocitos atípicos, y la extensión de la necrosis y proliferación vascular.

El «grado» pretende establecer una correlación entre los criterios morfológicos celulares de los procesos neoformativos y su comportamiento biológico,[67] con sus consiguientes implicaciones pronósticas y terapeúticas. Sin embargo es muy frecuente encontrar, en el seno de un mismo tumor, zonas heterogéneas en grado,[37,62,252,281] en especial en los tumores de inicio focal y posterior progresión[38,100] (Graf. 6).

Gráfico 6
HETEROGENEIDAD CITOLOGICA DE LOS ASTROCITOMAS

Cada símbolo representa una variedad morfológica de astrocito neoplásico. En rayado, un area de necrosis. Obsérvense los límites imprecisos de la tumoración. (Esquema tomado de Burger. Ref.37)

La «heterogeneidad» de estos tumores gliales no es sólo histológica, sino que ha sido observada también heterogeneidad reginonal: en la expresión de los marcadores de proliferación celular,[62,73] en la expresión de antígenos tumorales,[323] expresión de filamentos intermedios gliales,[188,299] presencia de receptores de factor de crecimiento,[327] o en el contenido de celular de DNA.[61]

En 1950, Ringertz[265] los reclasifica en tres grupos:

- «Astrocitomas»: como un tumor bien diferenciado, con densidad celular aumentada, esca sas atipias y mitosis, y ausencia de proliferación vascular y de necrosis.
- «Lesión intermedia»: con mayor densidad celular y actividad mitósica, y alguna pequeña proliferación vascular.
- «Glioblastoma multiforme»: con importante pleomorfismo, intensa actividad mitósica, y presencia de neovascularización y necrosis.

Durante algún tiempo, el Glioblastoma Multiforme fué considerado como una entidad propia, con una recia personalidad clínica, independiente del grupo de los Astrocitomas; con origen en las células precursoras pluripotenciales gliales,[11] y clasificado por Zülch en la Organización Mundial de la Salud (OMS)[377] de 1979 en un grupo denominado: «Tumores poco diferenciados», junto al Meduloblastoma y otros Tumores Embrionarios. (Tabla 1A)

Sin embargo posteriores estudios establecieron la naturaleza astrocitaria del Glioblastoma Multiforme: Primero Eng[97] en 1978, y después en 1980 Duffy y col.[91], estudiaron la expresión de la proteina gliofibrilar ácida (GFAP) en los tumores gliales, ya que constituía ésta un marcador de diferenciación celular astroglial.[96] En estos estudios y en otros posteriores, se pudo constatar la presencia de GFAP en los astrocitomas de cualquier grado de malignidad,[91,196,276,322] y en las áreas más diferenciadas de los glioblastomas.[91,97,135,274,322]

Mediante cultivos celulares, como los realizados por Escalona y Díez Nau[102], se puso de manifiesto que las células del Glioblastoma son capaces de madurar en sentido astrocítico. Además, posteriores trabajos con grandes cortes de material incluido en celoidina, permitieron demostrar la coexistencia de áreas de Astrocitoma y Glioblastoma.[37]

De manera que posteriores clasificaciones introducen ya al Glioblastoma en el grupo de Tumores Gliales de naturaleza astrocítica:[19,41,77,182] En 1993, la OMS. clasifica nuevamente los tumores del SNC.;[182,183] (Tabla 1B) y dentro del grupo de los Tumores Astrocíticos establece tres grados de diferenciación, utilizando para ellos nomenclatura romana:

- Grado II: Astrocitoma Difuso bien diferenciado.
- Grado III: Astrocitoma Anaplásico.
- Grado IV: Glioblastoma.

El grado I se reserva para el «Astrocitoma Pilocítico» (localizado en la línea media), puesto que los Astrocitomas Fibrilares (Difusos) son siempre, como mínimo, un grado II.

TABLA 1A: CLASIFICACION DE LOS TUMORES NEUROEPITELIALES OMS 1979

	GRADO
1. TUMORES NEUROEPITELIALES	
a) Tumores astrocíticos	
• Astrocitoma	2
– Fibroso	
– Protoplásmico	
– Gemistocítico	
• Astrocitoma piloide	1
• Astrocitoma gigantocelular subependimario	
• Astroblastoma	2-4?
• Astrocitoma anaplásico (maligno)	3
b) Tumores oligodendróglicos	
• Oligodendroglioma	2
• Oligoastrocitoma mixto	2
• Oligodendroglioma anaplásico (maligno)	3
c) Tumores ependimarios y de los plexos coroides	
• Ependimoma	1
– Ependimoma mixopapilar	1-2
– Ependimoma papilar	1
– Subependimoma	1
• Ependimoma anaplásico (maligno)	3-4
• Papiloma coroideo	1
• Papiloma coroideo anaplásico (maligno)	3-4
d) Tumores pineales	
• Pineocitoma (pinealocitoma)	1-3
• Pineoblastoma (pinealoblastoma)	4
e) Tumores neuronales	
• Gangliocitoma	1
• Ganglioglioma	1-2
• Ganglioneuroblastoma	3
• Gangliocitoma y ganglioglioma anaplásicos (malignos)	3-4
• Neuroblastomas	4
f) Tumores pobremente diferenciados y embrionarios	
• Glioblastoma	
– Glioblastoma con componente sarcomatoso (gliosarcoma)	4
– Gliosarcoma de células gigantes	4
• Meduloblastoma	
– Desmoplásico	4
– Medulomioblastoma	4
• Meduloepitelioma	4
• Spongioblastoma polar primitivo	4
• Gliomatosis cerebral	4

El gliogastoma es incluido en el grupo de tumores embrionarios. (OMS - 1; Zulch. Ref. 377)

TABLA 1B: CLASIFICACION DE LOS TUMORES DEL SNC. OMS 1993

Table 2 World Health Organization (WHO) grading system (malignancy scale) of CNS tumours.

Tumour Group	*Tumour Type*	*Grade I*	*Grade II*	*Grade III*	*Grade IV*
Astrocytic tumours	Subependymal giant cell	•			
	Pilocytic	•			
	Low grade		•		
	Pleomorphic xanthoastrocytoma		•	•	
	Anaplastic			•	
	Glioblastoma				•
Oligodendrogliomas	Low grade		•		
	Anaplastic			•	
Oligo-astrocytomas	Low grade		•		
	Anaplastic			•	
Ependymal tumours	Subependymoma	•			
	Myxopapillary	•			
	Low grade		•		
	Anaplastic			•	
Choroid plexus tumours	Papilloma	•			
	Carcinoma			•	•
Neuronal / glial tumours	Gangliocytoma	•			
	Ganglioglioma	•	•		
	Desmoplastic infantile ganglioglioma	•			
	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	•			
	Central neurocytoma	•			
Pineal tumours	Pineocytoma		•		
	Pineocytoma / pineoblastoma			•	•
	Pineoblastoma				•
Embryonal tumours	Medulloblastoma				•
	Other PNETs				•
	Medulloepithelioma				•
	Neuroblastoma				•
	Ependymoblastoma				•
Cranial & spinal nerve tumours	Schwannoma	•			
	Malignant peripheral nerve sheath tumour			•	•
Meningeal tumours	Meningioma	•			
	Atypical meningioma		•		
	Papillary meningioma		•	•	
	Hemangiopericytoma		•	•	
	Anaplastic meningioma			•	

El gliogastoma es incluido en el grupo de los tumores astrocíticos.
(OMS - 2; Kleihues. Ref. 182)

TABLA 2: CRITERIOS HISTOLOGICOS. DE GRADUACION TUMORAL

A

This study determines the effectiveness and reproducibility of a previously published method of grading gliomas. The method under study is for use on "ordinary astrocytoma" cell types, *i.e.*, fibrillary, protoplasmic, gemistocytic, anaplastic astrocytomas and glioblastomas, and is based upon the recognition of the presence or absence of four morphologic criteria: nuclear atypia, mitoses, endothelial proliferation, and necrosis. The method results in a summary score which is translated into a grade as follows: 0 criteria = grade 1, 1 criterion = grade 2, 2 criteria = grade 3, 3 or 4 criteria = grade 4. The histologic material

B

Astrocytoma
- Slight hypercellularity
- Slight pleomorphism
- No vascular proliferation
- No necrosis

Anaplastic astrocytoma
- Moderate hypercellularity
- Moderate pleomorphism
- No necrosis
- Vascular proliferation permitted

Glioblastoma multiforme
- Moderate to marked hypercellularity
- Moderate and marked pleomorphism
- Necrosis with or without pseudopalisading (required)
- Vascular proliferation (not required)

Clinic.[5] This scheme recognized a well differentiated astrocytoma Grade I; a more cellular and anaplastic astrocytoma Grade II; and the astrocytomas Grade III and IV that were synonymous with the glioblastoma multiforme. The subdivision of glioblastoma into Grades III and IV was based on the numbers of mitotic figures, the percentage of malignant astrocytes, the extent of necrosis and vascular proliferation, and the degree of pleomorphism.

C

D

Histological criteria for diagnosis of glioblastoma multiforme and highly anaplastic astrocytoma

glioblastoma multiforme
- a glial neoplasm that is at least focally highly cellular
- nuclear pleomorphism
- cytoplasmic pleomorphism
- vascular endothelial proliferation

highly anaplastic astrocytoma
- not a glioblastoma multiforme
- at least focally moderately to highly cellular
- presence of at least two of the following characteristics:
  - high nuclear/cytoplasmic ratio
  - coarse nuclear chromatin
  - much mitotic activity
  - nuclear pleomorphism
  - cytoplasmic pleomorphism

E

Pathology slides were submitted to RTOG headquarters and centrally reviewed by one neuropathologist (J.S.N.) for confirmation and classification according to the RTOG/Eastern Cooperative Oncology Group histopathologic criteria.[1] The slides were reviewed before knowledge of the institutional review. The classification of AAF was made when two or more of the following features were present: cellular or nuclear pleomorphism, increased cell density, mitotic figures, and endothelial or vascular proliferation without tumor necrosis. The diagnosis of GBM was made when there were one or more foci of coagulation necrosis involving neoplastic astrocytes in addition to the features of AAF. A comparison of institutional classification and central review was performed.

F

Astrocytoma
- Uniform cells closely resembling mature, resting or reactive, nonneoplastic astrocytes; moderate cell density; mitoses absent or very rare.

AAF
- Multifocal or diffuse cellular and/or nuclear pleomorphism; ↑ cell density; ↑ mitotic figures; ↑ vascular prominence; *no tumor necrosis.*

GBM
- Features of AAF plus one or more foci of coagulation necrosis involving neoplastic astrocytes.

The new World Health Organization (WHO) classification largely resembles the St. Anne/Mayo scheme (Table 1). Tumours with cytologic atypia alone are considered grade 2, those which in addition show mitoses are considered grade 3, whereas tumours showing atypia, mitoses, endothelial proliferation or necrosis are grade 4. Noteworthy is the fact that cellularity is not a pivotal criterion and that neoplasms with atypia and mitoses qualify as grade 3 lesions. Furthermore, although both endothelial pro-

G

Se reproduce en esta tabla el artículo original de los diversos autores, traducido y comentado en el texto.

A.- Daumas - Duport (Ref. 77)
B.- Burger (Ref. 41)
C.- Kernohan (Ref. en Burger 41)
D.- UCSF (Ref. 193)
E.- RTOG (Ref. 364)
F.- Nelson (Ref. 239)
G.- Kleihues (OMS) (Ref. 182)

Para la diferenciación de los distintos grados, a lo largo de los años, e incluso hoy en día, existen controversias y discrepancias en la aplicación de los criterios clásicos histológicos de la Reunión de Trabajo de St. Anne-Mayo, de Kernohan y col.[176] Así, en 1985 Burger,[41] en concordancia con los trabajos de Nelson,[239] diferencia el grado III del grado IV por la ausencia o presencia respectivamente de necrosis tumoral; y el grado II del III de manera subjetiva (Tabla 2).

Sin embargo, Daumas-Duport,[76,77] en 1988 y en trabajos posteriores, propone un sistema basado en cuatro criterios (Tabla 2): 1. Atipia nuclear; 2. Presencia de mitosis; 3. Proliferación endotelial; 4. Necrosis, valorando su ausencia o presencia. Con arreglo a esta valoración, se realiza el siguiente sumatorio:

- Grado 1: La presencia de ningún criterio.
- Grado 2: La presencia de un criterio.
- Grado 3: La presencia de dos criterios.
- Grado 4: La presencia de tres criterios.

El grado 1 se define por «mínimas» variaciones en la forma y tamaño nuclear (sin atipia). No se considera la densidad celular, que se encuentra aumentada en todos los grados.

La OMS[182] en su nueva clasificación de 1993, adapta el sistema de Daumas-Duport y lo simplifica (Tabla 3), atribuyendo a los diferentes grados no un sumatorio de criterios independientes, sino una secuencia acumulada de criterios (Tabla 2):

- Grado II: Presencia de atipia.
- Grado III: Presencia de atipia y mitosis.
- Grado IV: Presencia de atipia, mitosis, y proliferación endotelal o necrosis.

En este sistema, la densidad celular tampoco constituye el eje de la clasificación.

TABLA 3: SISTEMAS OMS Y CLINICA MAYO

Table 1 Comparison of the World Health Organization (WHO) and St. Anne / Mayo grading system for astrocytomas

WHO Grade	*WHO Designation*	*St. Anne / Mayo Designation*	*St. Anne / Mayo Histological Criteria*	*Associated Genetic Alterations*
I	Pilocytic astrocytoma			
II	Astrocytoma (Low grade)	Astrocytoma Grade 1 Astrocytoma Grade 2	Zero criterion One criterion, usually nuclear atypia	*p53* mutation & LOH 17p
III	Anaplastic astrocytoma	Astrocytoma Grade 3	Two criteria, usually nuclear atypia and mitotic activity	*p53* mutation & LOH 17p, LOH 19q
IV	Glioblastoma multiforme	Astrocytoma Grade 4	Three criteria, usually nuclear atypia, mitoses, endothelial proliferation and/or necrosis	*p53* mutation & LOH 17p, LOH 19q & LOH 10, EGF-R amplification

Abbreviations: LOH, loss of heterozygosity, EGF-R, epidermal growth factor receptor.

Tabla original tomada de Kleihues. (Ref. 182)

A diferencia del sistema Daumas-Duport, la OMS no contempla el grado I en los Astrocitomas de Bajo Grado (Tabla 3); y en el Daumas-Duport el grado 3 puede definirse en ausencia de mitosis evidentes por presencia de atipia y necrosis o angiogénesis (dos criterios); criterios estos últimos que definen el grado IV de la OMS (Tabla 2). Estos hechos y sus porcentajes pueden observarse en un trabajo de Kim[178] sobre una serie de 251 Astrocitomas (Tabla 4).

TABLA 4: DISTRIBUCION, CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS SISTEMA DAUMAS - DUPORT

*Distribution of four histological features among 251 supratentorial astrocytomas**

Features	0 Features (Grade 1) (No.)	1 Feature (Grade 2)		2 Features (Grade 3)		3 Features (Grade 4)		4 Features (Grade 4)		Total Cases	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
no. of cases	1	36	14	33	13	66	26	115	46	251	100
atypia	0	36	100	33	100	66	100	115	100	250	99.6
mitosis	0	0		26	78.8	65	98.5	115	100	206	82.1
endothelial proliferation	0	0		3	9.1	15	22.7	115	100	133	53.0
necrosis	0	0		4	12.1	52	78.8	115	100	171	68.1

Obsérvese cómo en el grado 3 puede existir necrosis o proliferación endotelial, y también casos sin mitosis evidentes. (Tomado de Kim. Ref.178)

De igual manera, el grado 2 de Daumas-Duport se corresponde con los grados 1 y 2 de Kernohan; y el grado 4 de Daumas-Duport con los grados 3 y 4 (Glioblastoma) de Kernohan.[29,77] En la Tabla 5 se muestra la correspondencia de algunos de los principales sistemas de clasificación empleados.

TABLA 5: COMPARACION DE SISTEMAS DE GRADACION DE ASTROCITOMAS

Kernohan[14,15] 1949	Ringertz[16] 1950	Modified Ringertz[13,17-19]	St. Anne-Mayo[20] 1988	University of California at San Francisco[21] 1989
Astrocytoma grade 1 Astrocytoma grade 2	Astrocytoma	Astrocytoma	Astrocytoma grade 1 Astrocytoma grade 2	Mildly anaplastic astrocytoma Moderately anaplastic astrocytoma
	Intermediate type	Anaplastic astrocytoma	Astrocytoma grade 3	Highly anaplastic astrocytoma Gemistocytic astrocytoma
Astrocytoma grade 3 Astrocytoma grade 4	Glioblastoma multiforme	Glioblastoma multiforme	Astrocytoma grade 4	Glioblastoma multiforme

(Tomado de Bruner. Ref.29)

El grupo de estudio de la Sociedad Americana de Radioterapia Oncológica «83-02»,[308,364] al igual que otros investigadores,[221,253] define al Glioblastoma por la presencia de intensa densidad celular acompañada de necrosis coagulativa y proliferación vascular; y al Astrocitoma Anaplásico por la presencia de «al menos dos» de los siguientes criterios: pleomorfismo celular o nuclear, aumento de la densidad celular, mitosis y presencia de proliferación vascular o endotelial, sin necrosis tumoral (Tabla 2).

De manera que, este Grupo de Trabajo, incluye en un mismo Grupo, al que denomina «Astrocitoma con focos anaplásicos (AAF)» o simplemente Astrocitoma Anaplásico, a los Tumores Astrocíticos de grado II y III de la OMS, o de grado 2 y 3 de Daumas-Duport. Y permanece el grupo de Astrocitomas (grado II) como un Tumor Astrocítico sin las características citológicas referidas, o de muy escasa intensidad, y con moderada densidad celular, similar al grado 1 de Daumas-Duport.

Toda esta disparidad en la definición de los Grados, por diferencias en la aplicación de los criterios histológicos, hace difícil la concordancia entre Instituciones, sobre todo en la definición del Astrocitoma Anaplásico (grado III) y en menor proporción del Glioblastoma (grado IV).[64,308] De ahí que resulte dificultosa la comparación de resultados entre las mismas.

Otras propuestas de clasificación están basadas en hallazgos genéticos, observados en los diferentes caminos de la transformación neoplásica de los tumores de estirpe astrocítica. Algunos grupos de investigadores, como el de von Deimling[356,357,358] o el de Lang,[199] refieren caminos de transformación neoplásica diferentes (Graf. 7): Uno progresivo, en el que encuentran mutación del gen p53 asociado a pérdida del alelo 17p; y otro de «novo» o directo, con p53 normal.

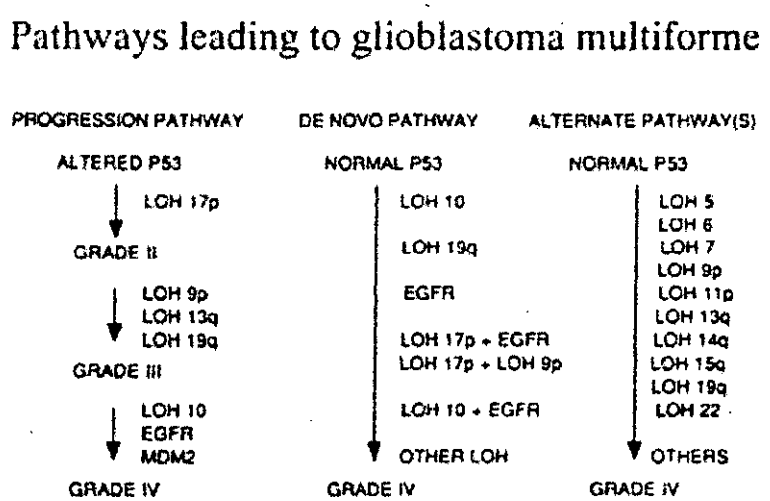


FIG. 3. Molecular genetic classification of astrocytic tumors into three pathways leading to glioblastoma multiforme.

Gráfico 7
CAMINOS DE TRANSFORMACION NEOPLASICA
Diversos caminos de progresión asociados a diferentes acúmulos de alteraciones genéticas. (Tomado de Lang. Ref. 199)

Estos hallazgos se corresponden con la idea original de Sherer,[296] que es quien acuñó en 1940 los términos de «Glioblastoma secundario» y «Glioblastomas de novo»; y que es continuada posteriormente por otros autores, como Escalona,[99] Dropcho,[87] o Burger y Kleihues[37]. Estos últimos autores, encuentran que las formas secundarias aparecen en edades más jóvenes, y con menor daño neurológico; correlacionándose además con una celularidad más heterogénea, debida a la progresiva transformación y coexistencia entre grados, en contraste con los primarios (de novo) que aparecerían constituidos más ampliamente por pequeñas células anaplásicas, mostrando un curso más agresivo.

La mayoría de los tumores de Alto Grado muestran una «masa tumoral compacta» identificable; sin embargo en raras ocasiones este componente se encuentra ausente, o representa una mínima parte del proceso neoplásico. Estos tumores se denominan con el término de «Gliomatosis Cérebri».[8] Aunque son de origen incierto, se les considera Gliomas.[182] Generalmente muestran fenotipo astrocítico, pero se han publicado algunos casos con fenotipo oligodendrocítico.[13] La OMS[182] los considera como una entidad propia clinico-radiologico-patológica; pero en ocasiones pueden mostrar focos de marcada celularidad con necrosis central, y entonce ser incluidos entre los Glioblastomas.

Desde los trabajos de Scherer[295] y de Courville[69] en 1936, así como en trabajos más recientes,[16,197] se han referido formas «Multifocales» de Gliomas, identificables tanto mediante técnicas de neuroimagen,[345] como mediante su posterior estudio histológico postmortem.[16] En estos casos se observan áreas sólidas dispuestas entre zonas de infiltración de variable intensidad celular. Hay casos en los que no se observa la conexión entre los diversos focos, denominándose entonces con el término de tumores «Multicéntricos», basándose en la presunción de que surgen de manera independiente.[16]

Algunos autores europeos, como Zülch,[378] Schiffer,[297] y Escalona,[99,100] establecen dos variantes de Astrocitomas, que constituyen entidades biológicas distintas:

- Los «Astrocitomas de los hemisferios cerebrales».
- Los «Astrocitomas de línea media».

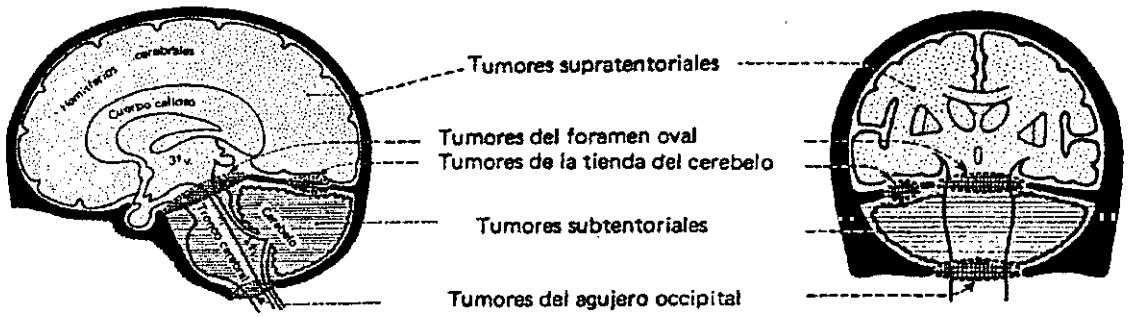
Esta dualidad se basa en consideraciones histogénicas, histológicas y de comportamiento evolutivo:

La mayoría de los Astrocitomas de la línea media son propios de edades juveniles;[204,297] tienen su origen en la glía subependimaria;[378] están formados por astrocitos piloides bipolares, capaces de desarrollar fibras de Rosenthal,[297] y muestran un grado 1 de malignidad,[377] con una larga supervivencia.[110,149] Menos frecuentes son las formas malignas y difusas fibrilares.

Los Astrocitomas hemisféricos alcanzan su máxima frecuencia en adultos;[15,211] tienen su origen en los astrocitos fibrilares de la sustancia blanca, y con menor frecuencia en los protoplásmicos;[100] presentan atipia celular, y una gran propensión a progresar hacia formas anaplásicas;[234,270,281,318] muestran variabilidad en el grado, y baja supervivencia.[116,284]

De manera parecida, Escourolle[103] los clasifica topográficamente en Tumores Supratentoriales (Tumores de la fosa anterior) y Tumores Subtentoriales (Tumores de la fosa posterior) (Graf. 8), basándose el diferente comportamiento biológico que manifiestan según su localización.

Gráfico 8
TOPOGRAFIA TUMORES INTRACRANEALES
(Tomado de Escourolle. Ref. 103)



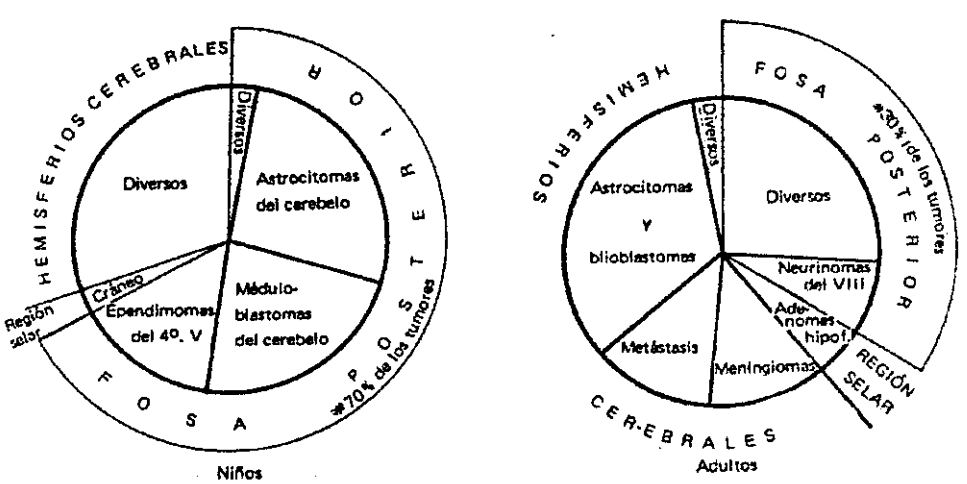
Black[20] en una revisión que realiza, agrupa a los Astrocitomas en Bajo y Alto Grado de Malignidad. En el primer grupo se encuentran los Astrocitomas Difusos o Fibrilares (Astrocitomas grado II), denominados también «Bien diferenciados»; y en el segundo grupo se encuentran los designados «Astrocitomas Malignos», conrrespondientes a los Tumores Astrocíticos de grado III y IV de la OMS: Astrocitoma Anaplásico y Glioblastoma Multiforme respectivamente.

2.2. FACTORES ETIOPATOGENICOS Y EPIDEMIOLOGICOS.

Los tumores del SNC., confirmados histológicamente, tienen una incidencia anual de 7,3 por cada 100.000 habitantes, según una encuesta hospitalaria realizada en USA. por el Instituto Westat,[371] entre 1973 y 1974. El tipo histológico y su distribuión topográfica varían según la edad (Graf. 9).

Gráfico 9
DISTRIBUCION TUMORES INTRACRANEALES

Los astrocitomas malignos son más frecuentes en la edad adulta y localización hemisférica.
(Tomado de Escourolle. Ref. 103)



Los Gliomas Malignos son responsables del 2,5% de las muertes debidas al cáncer (de cualquier origen); y representan la tercera causa de mortalidad por cáncer en menores de 35 años.[283]

Los Tumores Astrocíticos Malignos constituyen el grupo más numeroso de los tumores del SNC.[41,211] representando el 40% de los tumores primarios cerebrales en el adulto,[211] de los cuales el 29% corresponde al Glioblastoma Multiforme, y el 11% al Astrocitoma Anaplásico. La mayoría de los gliomas humanos son de la línea astrocítica;[75] y de ellos, el 50% son de máximo grado de malignidad (Grado IV).[346]

Pueden aparecer a cualquier edad, aunque alcanzan su mayor incidencia en torno a los cincuenta y cinco años;[15,41] situándose sus medias de edades en 49,7 años para el Astrocitoma Anaplásico y 60,2 años para el Glioblastoma Multiforme;[211] o de 50,3 y 56,8 años respectivamente según otros autores.[178] Son muy infrecuentes en edades pediátricas, habiéndose referido de forma excepcional algún caso congénito.[218,256] Muestran un ligero predominio por el sexo masculino, en razón de 1,3 ó 1,4 :1.[178,211,284]

En los adultos son generalmente de localización hemisférica, mientras que en edades pediátricas se encuentran con más frecuencia en la fosa posterior[2,103,204] (Graf. 9). También se pueden localizar en la médula espinal,[56,98] y en el cerebelo;[51,149] siendo en esta localización más frecuentes los astrocitomas de bajo grado de tipo pilocítico.[149]

El hemisferio derecho tiene una incidencia ligeramente mayor que el izquierdo.[211] Dentro de ellos, los lóbulos frontal, temporal y parietal se afectan con similar frecuencia, mostrandon un ligero predominio el lóbulo temporal, y menor prevalencia el occipital.[77,100,178,190,211] En la serie de Kim y col.[178] sobre 251 tumores astrocitarios, encuentran 153 que afectan a un sólo lóbulo, 93 que alcanzan a varios lóbulos, y 5 carentes de información clínica.

El tamaño tumoral es impreciso por la difícil valoración de los bordes de infiltración. No obstante, Ganju[116] refiere, en una serie de 207 Tumores Gliales de la Clínica Mayo, de los que 153 eran Astrocitomas Fibrilares, que el 27% de los casos sobrepasaban los 5 cm. en el momento del diagnóstico. Werner-Wasik y Scott[364] refieren que sobre un total de 786 Gliomas supratentoriales, el 51% sobrepasaban los 5 cm. de tamaño.

La mayoría de los Astrocitomas Malignos son únicos, encontrándose formas multifocales/ multicéntricas en un 5-10% de los casos,[16,197,281] y tan sólo en un 1-2% en estudios previos radiológicos;[345] encontrándose como tales, tanto los Astrocitomas de grado III (2,5%), como los Gliomas de grado IV (5%).[197]

En ocasiones aparecen sincrónicos a otros procesos neoplásicos, primarios y secundarios de localización también cerbral, en una proporción del 29% en los tumores multifocales,[197] y del 2,9%

del total de una serie necrópsica de 241 Gliomas.[16]

La etiología es desconocida.[38] En ocasiones han sido asociados a la exposición de radiaciones ionizantes,[289,309,375] o se les ha encontrado predisposición genética.[217]

Los estudios de biología molecular y citogenética ponen de manifiesto alteraciones cromosómicas:[20,116,369] sobre todo ganancias en el cromosoma 7, y pérdidas en los cromosomas 9 y 10, relacionadas con un peor pronóstico. También se han descrito anomalías en otros cromosomas, destacando por su importancia las delecciones en el brazo corto del cromosoma 17, pues existe la hipótesis de que un gen del 17p está involucrado en la iniciación de los gliomas, o al menos en una gran parte de ellos (Graf. 7).[159,199,350]

Otros autores[246] refieren la delección del CDKN2/p16 como la alteración genética más frecuentemente observada en Astrocitomas Malignos; encontrandole una corelación significativa con el aumento de la actividad proliferativa tumoral, mediante la cuantificación de la proteina Ki-67.

La transformación maligna a Alto Grado, y la capacidad de progresión, resultan de la expansión clonal de células con mutaciones, asociadas con la secuencial adquisición de alteraciones genéticas, en las que se incluyen las alteraciones en los genes supresores p53 y p16;[185,199,315] y que en los Gliomas se inicia generalmente como un proceso monoclonal.[173,199]

2.3. CARACTERISTICAS HISTOPATOLOGICAS Y TIPOS TUMORALES.

2.3.1. EL TEJIDO TUMORAL: Los Astrocitomas Malignos muestran unas características histológicas de morfología compleja. En ellas hay que considerar las características propias del tumor, y otras derivadas de los fenómenos acompañantes al proceso neoformativo, y de la persistencia de estructuras infiltradas por el tumor. Se pueden esquematizar de la siguiente manera:

ESTRUCTURAS PRIMARIAS: Su imagen morfológica depende de las características propias del tumor y su patrón de crecimiento.

Siguiendo a Escalona,[100] los Astrocitomas presentan un citoplasma tanto más estrellado y multipolar cuanto más maduro es el tumor; y como consecuencia del proceso de desdiferenciación, estas estructuras y su morfología se van simplificando. La célula aparece con citoplasma más escaso y disminución de gliofilamentos; y el núcleo se hace más hipercromático. Y debido a las alteraciones madurativas aparecen células atípicas, con núcleos grandes e irregulares, y citoplasma con gruesas expansiones, que en ocasiones acumulan gliofilamentos.

Estos dos procesos pueden aparecer simultáneamente, dando lugar a abigarramiento de imágenes, e intenso pleomorfismo. Daumas-Duport[77] define la «atipia nuclear» por la presencia de hipercromasia y/o variación en su forma y tamaño. La mínima variación en la forma y tamaño nuclear se considera ausencia de atipia. A pesar de su subjetividad, la interpretación de atipia nuclear tiene una alta concordancia entre patólogos.[77]

Paralelamente al proceso de desdiferenciación, aumenta la capacidad proliferativa, con incremento de la densidad celular y presencia de mitosis. La actividad proliferativa tumoral se encuentra altamente correlacionada con la densidad celular que llega a alcanzar el tumor;[181] y ambas también con el grado histológico.[181] El número de células tumorales en mitosis es un parámetro con una gran significación predictiva del comportamiento biológico tumoral,[4,67] hasta el punto que la OMS[182] aplica su presencia como criterio diferenciador de los tumores de Bajo y Alto grado de malignidad.

Fulling y García[112] encuentran implicación pronóstica en la identificación de una mitosis por diez campos de gran aumento. Y Schröder[305] relaciona su presencia con el grado histológico, refiriendo 4.6 mitosis por mil células tumorales en el Glioblastoma; 2.3 por mil en el Astrocitoma grado III; y 0.7 por mil, con rango de 0,3 a 1,5 por mil células tumorales, en el Astrocitoma de grado II.

Con técnicas convencionales puede resultar difícil la identificación de las células en mitosis.[64] Incluso, la presencia de picnosis y cariorrexis pueden confundir aún más su contaje.[77] Además, el número de mitosis presentes en el tejido depende, como señalan Donhuijsen[86] y Cavanagh,[49] no sólo del tipo de tumor, sino también del fijador utilizado, del tiempo transcurrido entre la resección y la fijación del material quirúrgico, y del daño hipóxico en el tejido previo a la resección.

Para facilitar su identificación y establecer un índice mitósico, se pueden utilizar marcadores de proliferación celular; existiendo correlación directa entre el número de figuras de mitosis y el valor de la expresión de los marcadores de proliferación celular.[304] Entre estos últimos destaca el empleo de bromodeoxyuridina (BUdR);[154,245] los anticuerpos PC10 y Ki-S1 para reconocer el antígeno nuclear PCNA;[220,333] y los anticuerpos Ki-67 y MIB-1 para reconocer el antígeno de proliferación Ki-67.[169,177,219,229,360]

En su crecimiento, las células tumorales se disponen generalmente sin orden, de manera difusa, con patrón amorfo; pero es frecuente encontrarlas también agrupadas en torno a pequeños focos de necrosis, conformando imágenes festoneadas; en donde aparecen entremezcladas con células microgliales.[257]

En ocasiones el crecimiento es «puramente expansivo», apareciendo los márgenes de la tumoración edematosos si el crecimiento es muy rápido, y gliósico en las neoplasias de crecimien-

to lento.[100,378] Pero lo más frecuente en Astrocitomas de Alto Grado es el crecimiento «infiltrante», destruyendo el tejido invadido. Estos tumores pueden extenderse muy ampliamente, incluso al hemisferio contralateral, a través del cuerpo calloso o de la comisura anterior, formando los llamados «tumores en mariposa».

La mayoría de los gliomas malignos se desarrollan en la sustancia blanca,[100] y sólo llegan a infiltrar la corteza rara vez, y siempre de forma tardía; así mismo son muy poco frecuentes los originados en los ganglios grises de la base.

ESTRUCTURAS SECUNDARIAS: son debidas a la persistencia de elementos tisulares, que aparecen entremezclados con las células neoplásicas. Entre los elementos celulares «atrapados», destacan las células gliales maduras,[22,101,184] que se disponen predominantemente de manera perivascular y en continuidad con la gliosis peritumoral.[101] También puede identificarse microglía,[257] sobre todo localizada en las empalizadas periféricas de las necrosis focales; y en ocasiones neuronas, con mayor frecuencia presentes en los tumores localizados en el lóbulo temporal.[100]

Las alteraciones vasculares son otro de los elementos importantes presentes en los Astrocitomas Malignos. Tanto es así que la presencia de «proliferación microvascular (MVP)» constituye, al igual que la presencia de mitosis, un criterio diferenciador de Bajo y Alto Grado de Malignidad en los Tumores Astrocíticos.[64,100,182,200] Para algunos autores es equiparable en importancia diagnóstica a la necrosis.[77,178,182,366]

La angiogénesis, o neoformación vascular, acontece tanto en procesos fisiológicos como patológicos; destacando su importancia en el crecimiento tumoral:[9,108,109] Los tumores sólidos necesitan inducir la angiogénesis para ayudar a la demanda metabólica surgida por el crecimiento de la población celular tumoral. Y de acuerdo con la hipótesis de Folkman,[107] un mayor patrón de crecimiento sólido implica una mayor dependencia del incremento angiogénico. Janzer[160] sugiere que los astrocitos desempeñan un importante papel en la regulación de la neogénesis vascular.

Los Astrocitomas Malignos tienen una potente actividad angiogénica, consistente en la proliferación de vasos capilares («Microvascular Proliferación» o «MVP»)[29,38,77] (Fig. 3). Estos muestran incremento en el grosor de su pared, debido a hiperplasia de células endoteliales, que aparecen tumefactas e incluso con ligera atipia; y que puede ir acompañada de incremento de pericitos,[64,301] y de proliferación adventicial.[29]

Conforme proliferan las células endoteliales se van formando luces secundarias, dando lugar a la aparición de estructuras vasculares de aspecto «glomeruloide»,[100,366] o de tipo «telangiectásico»,[38] con tapizamiento por varias capas de células endoteliales.

Vitolo[355] diferencia tres tipos de proliferación endotelial: crecimiento sólido-glomeruloide (Fig.3); formación de luces ramificadas, tapizadas por una sóla hilera celular (Fig. 5A); y formación de luces telangiectásicas (Fig. 3B). Las células endoteliales proliferadas expresan moléculas de adhesión, que parecen estar ralacionadas con la maduración y el crecimiento tumoral.[68,355]

En los Astrocitomas de Bajo Grado, sí se observa incremento en el número de capilares, pero apenas hay alteración del endotelio, formándose «ovillos» de luces adelgazadas por hiperplasia adventicial,[38,100] y revestidas por una sóla capa de endotelio. Estas formaciones vasculares se observan también en los Tumores de Alto Grado (Fig. 5A), junto a las «MVP» referidas.

En la práctica diagnóstica, la identificación de «MVP» es difícil y con un cierto grado de subjetividad: En un estudio interhospitalario reciente,[64] realizado por relevantes expertos, el porcentaje de concordancia inicial para la identificación de presencia MVP. fué del 52% de los casos estudiados, elevándose al 71% de concordancia diagnóstica al final de la Reunión. Contrastan estos resultados con los del trabajo de Daumas-Duport,[77] en el que se refiere una concordancia entre patólogos del 91,6%, en la identificación de hiperplasia endotelial.

Otro elemento secundario que puede encontrarse en estos tumores es la fibrosis.[3,50,100] Las células tumorales inducen la producción de reticulina y colágeno;[50] y aunque los gliomas carecen de tejido conjuntivo, la fibrosis puede desarrollarse:[100] a partir del conjuntivo vascular, como consecuencia de una importante hiperplasia adventicial; a partir de la aracnoides; y también de áreas de tejido de granulación de tipo reparativo, con una rica vascularización en zonas de necrosis.

ESTRUCTURAS TERCIARIAS: Son todos aquellos elementos que aparecen en el tejido tumoral y tejidos adyacentes infiltrados, como consecuencia del incremento de la densidad celular tumoral asociada a tastornos en su vascularización. Entre estos fenómenos cabe destacar la hemorragia, la necrosis y el edema, que pueden acompañarse de una respuesta tisular al tumor.

Por su importancia pronóstica, así como por las implicaciones terapeúticas y de diagnóstico, destaca la identificación de presencia de necrosis. La necrosis es un criterio de especial relevancia en todos los Sistemas de Clasificación de los tumores de estirpe astrocítica;[41,77,182] sirviendo de llave diagnóstica para el Glioblastoma Multiforme (Astrocitoma Maligno grado IV) por diversos autores.[41,239,308]

La concordancia entre distintos patólogos en la identificación de necrosis es muy alta, en torno al 90%, produciéndose algunas discrepancias respecto a la interpretación de pequeñas necrosis focales.[64]

Para algunos autores,[15,77,100,178] la presencia de necrosis no es imprescindible para el diagnóstico de Glioblastoma Multiforme. E incluso, Escalona,[100] el grupo de Schiffer y Chiò,[298] Kim[178] o

Daumas-Duport[77] señalan la posibilidad de presencia de necrosis focales en los Astrocitomas Anaplásicos.

Por otra parte, cuando el material estudiado procede de pequeñas biopsias esterotáxicas puede no encontrarse incluida la necrosis en el material resecado, en relaciones que varían desde el 7,7%, en una serie de 181 tumores de grado IV,[178] al 34%, en otra serie de 80 tumores también de grado IV.[264]

La necrosis puede adquirir dimensiones y aspecto morfológico variado: desde más o menos amplias zonas; hasta necrosis focales, que en ocasiones se acompañan de característica empalizada periférica de células tumorales (Fig. 4), y presencia de vasos proliferantes de disposición periférica a la necrosis (Fig. 3B). De manera excepcional, pueden observarse casos en los que existe empalizada de células tumorales sin presencia de necrosis en su zona central[41,77] (Fig. 11A). Este hecho es preciso tenerlo en cuenta en la valoración de la necrosis.[77]

El aumento de vascularización tumoral, y la paradójica coexistencia con necrosis, sugiere que es limitada la contribución de aquella a la viabilidad del tumor; bien sea por insuficiente, o bien por aparecer demasiado tarde.[131,367]

Junto a estos fenómenos, pueden aparecer otros hechos en relación a la respuesta tisular al tumor. Los principales son la respuesta gliósica y los infiltrados linfocitarios:

La gliosis reactiva, referida ya por Río-Hortega,[267] se caracteriza por la presencia de abundantes astrocitos con soma amplio eosinófilo y expansiones radiales gruesas, inmersos en un neuropilo conservado (Fig. 5B).

Los infiltrados linfocitarios se corresponden con la Respuesta Inmune Celular;[196,231,293] y están constituidos principalmente por linfocitos T de la clase CD8,[293] situándose frecuentemente en relación a los vasos, dando lugar en ocasiones a imágenes típicas de «manguitos perivasculares» (Fig. 8A).

2.3.2. TIPOS TUMORALES DE ALTO GRADO: Los Astrocitomas de «Alto Grado» de malignidad[20] son los pertenecientes a los grados III y IV de la clasificación de la OMS., que mantienen su nombre propio clásico de Astrocitoma Anaplásico y Glioblastoma Multiforme respectivamente.[182] Si bien, como ya ha sido referido, la delimitación entre ellos dos no está bien definida.

A/. ASTROCITOMA ANAPLASICO: En él destaca la presencia de un gran aumento de la densidad celular, que está constituida por astrocitos atípicos, con gruesas y cortas expansiones citoplasmáticas, que ocasionalmente terminan en algún vaso. Entre esta población celular, algu-

nas veces pueden observarse focos de células más desdiferenciadas, de escaso citoplasma y núcleo pequeño hipercromático.

Es frecuente también encontrar, entre los astrocitos atípicos fibrilares, otros de tipo gemistocítico. La variedad de Astrocitoma Gemistocítico fué introducida por Elvidge[94] en 1935; sin embargo ya no se considera como otro tipo de tumor;[29,193] pudiéndose identificar focos gemistocíticos en cualquier grado de Astrocitoma.[281] Su presencia se ha relacionado con el proceso de transformación anaplásica, asociándose a un mal pronóstico.[78,193,281]

La presencia de oligodendrocitos gliofibrilares (GFOC) y de minigemistocitos puede ponerse de manifiesto en las formas mixtas oligoastrocíticas,[191] que tienen distinto comportamiento biológico y mayor supervivencia que los astrocitomas puros.[64] Ha sido sugerido que la posible transformación de tumor oligodendroglial a astrocitario se realiza a partir de minigemistocitos originados por transformación de los GFOC.[191,225]

El aumento de densidad celular viene acompañado por la presencia de figuras de mitosis, al menos 1 por 10 campos de gran aumento;[112] aunque otros autores[64] consideran insuficiente una sóla mitosis para asignarle el grado III al Tumor Astrocítico, no pudiéndose determinar un número concreto. La definición de los grados, como se ha referido con anterioridad (en el «Concepto y clasificación de los tumores Astrocíticos»), no presenta uniformidad institucional y depende del Sistema de Clasificación que se aplique.

El diagnóstico diferencial histopatológico se realiza fundamentalmente con:

- El Astrocitoma Difuso (grado II): por la presencia de mitosis,[77,182] o en su defecto de «MVP» en el sistema de Daumas-Duport.[76,77] Sin embargo la Sociedad Americana de Radioterapia Oncológica[308,364] los mezcla en un mismo grupo, independientemente de la presencia o ausencia de mitosis y/o vascularización, denominado «AAF» (Astrocitomas con focos anaplásicos); siendo dificultoso y subjetivo el delimitar qué grado de atipia o de densidad celular clasificaría estos tumores en grado II o en grado III.

El diagnóstico del Astrocitoma Anaplásico tiene una baja concordancia, no sólo por la disparidad en la aplicación de criterios,[308] sino también por la dificultad en la identificación de las mitosis con técnicas convencionales, con concordancias en su identificación entre el 67% y el 76%, por observadores expertos.[64]

- El Oligoastrocitoma de Alto Grado: por la ausencia de componentes oligodendrogliales. Las zonas con celularidad oligodendroglial pueden alternar con otras de aspecto astrocítico maligno, incluso con microvascularización y necrosis con pseudoempalizada. La importancia en la identificación de los tumores mixtos se fundamenta en la larga supervivencia de éstos. Incluso con

presencia de necrosis y angiogénesis siempre muestran mejor pronóstico que las formas puras astrocíticas.[64,310,311]

Algunos estudios indican que estos tumores mixtos no tienen un origen policlonal, sino que son el resultado de alteraciones genéticas que conducen a alteraciones en los factores que intervienen en el crecimiento y diferenciación celular.[185]

- Tumores Oligodendrogliales puros, no sólo anaplásicos sino también con los bien diferenciados, cuando se realizan cortes en congelación, en los que no se observan los «halos artefactuales», y en su lugar las células tumorales oligodendrogliales muestran hipercromatismo nuclear con angulación. En ausencia de halos perinucleares adquiere importancia la uniformidad y redondeamientos nucleares, así como la frecuente extensión cortical de la infiltración, en estos tumores.

- El Glioblastoma Multiforme (Astrocitoma grado IV): por la ausencia de necrosis y/o de microproliferación vascular, según sistemas.[41,77] Algunos autores[100,298] atribuyen pequeñas necrosis focales al grado III, en el contexto y valoración de todo el tejido tumoral.

- La Gliosis reactiva con elevado pleomorfismo nuclear, e incluso con alguna mitosis, que puede aparecer de forma subaguda o crónica en el curso de una enfermedad desmielinizante o tras irradiación.[38] En estos casos es preciso valorar las características histológicas de atipia, índice proliferativo o densidad celular tumoral presentes en los Astrocitomas Anaplásicos. En las enfermedades desmielinizantes suele encontrarse un elevado número de histiocitos.[38]

B/. GLIOBLASTOMA MULTIFORME: En él observamos también un aumento de la celularidad, con presencia de astrocitos atípicos de talla media, que en ocasiones se acompañan de focos de células pequeñas isomorfas; y de otras más abigarradas, gigantes y pleomórficas entremezcladas. Otras veces adquieren forma fusocelular;[145,224,226] lipidización citoplasmática;[124,271] o aspecto epitelioide, con positividad para citoqueratina;[115,232] e incluso pueden sufrir metaplasia mixoide,[224] o condroide,[174] aunque con positividad para marcaje de proteina gliofibrilar ácida.

Todo ello le confiere un aspecto variable, desde asemejarse al Astrocitoma Anaplásico, hasta mostrar morfología sarcomatosa, o adquirir aspecto abigarrado con células gigantes e hiperplasia prominente endotelial.

Aquellos casos en los que predomina la presencia de células gigantes constituyen el subtipo de «Glioblastoma de Células Gigantes (GCG)». Katoh[172] diferencia los GCG del adulto, cuyas células gigantes muestran positividad para GFAP y marcado índice proliferativo, manifestando un comportamiento similar al Glioblastoma, de aquellos GCG que aparecen en jóvenes, predominantemente mujeres, los cuales tienen infrecufentes células en mitosis, y características similares al

Xantoastrocitoma Pleomórfico.

En ocasiones la población de células pequeñas isomorfas puede dominar el cuadro morfológico, siendo denominado por algunos autores como «Glioblastoma Isomorfo».[100,188] En estos casos adquiere parecido histológico con los Tumores Primarios Neuroectodérmicos (PNET). Su presencia no parece asociarse a un curso más agresivo.[41]

Con menor frecuencia, en un 2-8% de los casos, el Glioblastoma contiene un componente sarcomatoso,[145] que surge de las células mesenquimales asociadas a la hiperplasia adventicial, y que no empeora el pronóstico.[29,64]

El diagnóstico diferencial histopatológico se realiza fundamentalmente con:

- El Astrocitoma Anaplásico (Astrocitoma grado III): ya referido; así como con formas malignas de Ependimomas y de Tumores Mixtos Oligoastrocitarios. Hechos de ependimoma serían el elevado número de sistemas gliovasculares, con escasas alteraciones vasculares y halo claro perivascular. En el segundo caso sería la demostración de áreas oligodendrogliales.

- El Gliosarcoma: La distinción entre el Glioblastoma con exuberante componente angiogénico («Glioblastoma Desmoplásico»[50]) y «Gliosarcoma» no está bien definida; e incluso su «naturaleza dual», generalmente aceptada,[50,100] ha vuelto a ser cuestionada.[3]

- El Tumor Primario Neuroectodérmico (PNET): Este término surgió en 1973, acuñado por Hart y Earle,[147] para referirse a tumores de localización hemisférica que mostraban un gran parecido morfológico con los Meduloblastomas cerebelosos. Como señalan Burger y Scheithauer,[38] el concepto de PNET tiene una doble vertiente: tanto para referirse a tumores embrionarios de células pequeñas, en general; como en sentido más estricto, para aquellos tumores embrionarios de células pequeñas que exiben divergente diferenciación.

Rorke[269] junta todos los tumores embrionarios con divergente diferenciación en una única categoría: PNET, sin tener en consideración sus peculiaridades morfolólicas ni su localización. Otros autores consideran que este sistema representa una excesiva simplificación.[275,281]
Estudios inmunohistoquímicos de pequeñas series de estos tumores, han demostrado su capacidad para diferenciarse sólo en líneas glial y/o neuronal.[35]

De forma similar al proceso de desdiferenciación anaplásica que tiene lugar en la trasformación astrocítica hacia Glioblastoma, han sido descritos algunos pocos casos de Meduloblastoma, como resultado final de la trasformación anaplásica de formas más maduras previas de Astrocitoma cerebeloso.[279,302] De manera que en ocasiones, puede ser virtualmente imposible diferenciar si las células isomorfas son anaplásicas o embrionarias.[275]

Por lo tanto, la presencia de celularidad pequeña isomorfa, sobre todo en edades juveniles, podría ser muy similar en los Tumores Embrionarios con diferenciación astroglial y en los Glioblastomas Isomorfos. Estos últimos, como señalan Burger y Scheithauer,[38] no son tan monomorfos como los Embrionarios y contienen más frecuentemente zonas de diferenciación astrocítica; aparecen con mayor frecuencia en la edad adulta; y exiben mayor pleomorfismo nuclear; así como frecuentes fenómenos de proliferación vascular (endotelial) y necrosis, hechos infrecuentes en la mayoría de los Tumores Embrionarios.

- Con Linfomas y Metástasis, que pueden simular características histológicas del Glioblastomas; en los cuales su expresión inmunofenotípica puede ser de gran ayuda; si bien es preciso tener en cuenta que los tumores astrocíticos pueden expresar, además de GFAP, marcaje variable para vimentina,[214,215,300,354] proteína S100[179,188,214] y citoqueratinas.[66,115,232]

2.4. ASPECTOS CLINICOTERAPEUTICOS.

Los Astrocitomas en general, y en particular los Astrocitomas Malignos, pueden debutar con diversa sintomatología; pero ésta no está relacionada con el grado, y por tanto los síntomas de inicio podrán ser similares en cualquier grado de Tumor Astrocítico.[318]

Destacan por su frecuencia:[190,211,318] las crisis generalizadas y parciales (epilepsia); déficits focales (paresia y parálisis); cambios en la personalidad y alteraciones psíquicas; cefaleas, solas o asociadas a vómitos y a signos neurológicos, por déficits motores con afectación de pares craneales, pérdida de visión y afasia; alteración de la consciencia; y papiledema.

La progresiva pérdida de la función neurológica es más frecuente en tumores infiltrantes, con destrucción tisular, observándose en el 78% de los glioblastomas, sobre todo en los de localización parietal.[211] En relación al déficit neurológico y grado de invalidez que se origina, se ha establecido una escala de gradación («Escala de Karnofsky»[171,211]) (Tabla 6), que a continuación se resume:

- 100: Asintomático.
- 90-80: Actividad normal, con algunos síntomas.
- 70-50: Incapaz de hacer una actividad normal. Requiere cuidados y asistencia.
- 40-30: Invalidez (moderada o severa).
- 20-10: Enfermo terminal.

Menos de un 20% de los pacientes con Glioblastoma alcanzan un rango superior a 70 a la conclusión del tratamiento inicial; lo que traduce una disminución del mismo en relación al status prequirúrgico.[211]

TABLA 6: ESCALA DE KARNOFSKY

Karnofsky rating prior to any definitive therapy

Karnofsky Rating*	1980 Survey		1985 Survey	
	No.	%	No.	%
100	113	2.4	229	3.6
90	1018	21.4	1523	23.7
80	1132	23.8	1530	23.8
70	533	11.2	734	11.4
60	372	7.8	553	8.6
50	409	8.6	497	7.7
40	263	5.5	312	4.9
30	142	3.0	184	2.9
20	113	2.4	111	1.7
10	48	1.0	45	0.7
00	76	8.2	56	0.9
999	389	8.2	482	7.5
not reported	156	3.3	165	2.6
total	4764	100.0	6421	100.0

* The Karnofsky scale is defined as follows:
100 Normal: no complaints, no evidence of disease
90 Able to carry on normal activity, minor symptoms
80 Normal activity with effort, some symptoms
70 Cares for self, unable to carry on normal activity
60 Requires occasional assistance, cares for most needs
50 Requires considerable assistance and frequent care
40 Disabled, requires considerable assistance and frequent care
30 Severely disabled, hospitalized, death not imminent
20 Very sick, active supportive treatment needed
10 Moribund, fatal processes are rapidly progressing
999 unknown.

Tomada de Mahley (Ref. 211) sobre un total de tumores primarios intracraneales en U.S.A. en los años referidos. Se comenta y traduce en el texto.

La diseminación de la enfermedad, con aparición de metástasis a distancia, es extremadamente infrecuente. En una revisión de 8.000 casos de tumores neuroectodérmicos, del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas (AFIP.), realizada por Smith y col.,[316] sólamente fueron encontrados 35 casos con diseminación metastásica, de los que 23 eran glioblastomas.

A lo largo de los años se han ido sucediendo casos aislados con revisiones retrospectivas,[55,186,205] en los que se refiere afectación metastática en hueso, médula ósea, pleura, pulmón, hígado y ganglio linfático. El principal mecanismo de diseminación es por infiltraión dural e invasión venosa en pacientes que no han recibido tratamiento, a la que se añaden las vías hematógena y linfática en pacientes con craniotomía previa.[55,186]

También ha sido referido un cierto grado de asociación entre gliomas y facomatosis o enfermedades desmielinizantes, especialmente en tumores multifocales.[16,319]

Para el diagnóstico prequirúrgico, los datos clínicos se complementan con el estudio radiológico por medio de la Resonancia Magnética. Con ella se obtienen unas imágenes en las que se identifica la presencia tumoral, su localización y tamaño. Y mediante la valoración de determinados criterios radiológicos:[9,187] como la definición de los márgenes de la masa, heterogeneidad tumoral, presencia de necrosis y de formaciones quísticas, edema y efecto de masa, existencia de flujo nulo, y la invasión o no de la línea media, se establece el probable grado de agresividad, que guarda una buena correlación con el grado histopatológico.[9,79,163,336]

La mala delimitación de los márgenes tumorales sugiere un Alto grado de malignidad.[9,79] De igual manera, la imagen de necrosis y/o del incremento de la vascularización tumoral se asocia con un mayor grado de malignidad.[9] La heterogeneidad de imagen radiológica tumoral se correlaciona con el grado, pero no es específica de Glioblastoma.[79]

La presencia de edema y el efecto de masa aparecen con contradictoria valoración: En algunos estudios[9,163] su presencia no nos permiten hacer la distinción entre los diversos grados de Astrocitoma; mientras que para otros autores[79] el efecto de masa es el parámetro que aparece mejor correlacionado con el grado tumoral.

Con la presencia de hemorragia ocurre otro tanto: para algunos autores[187,359] no es característica de ningún tipo tumoral, y puede estar presente en cualquiera de ellos; mientras que para el grupo de Dean[79] el depósito de hemosiderina/hemorragia es mínimo o ausente en el Astrocitoma Anaplásico, contrariamente a lo que sucede en el Glioblastoma, según refieren.

En general, los tumores que alcanzan el cuerpo calloso e infiltran la línea media son de Alto grado, pero este hecho no es exclusivo del Glioblastoma, pues también puede ser observado en Astrocitomas Anaplásicos de localización profunda,[9] e incluso en Astrocitomas Difusos de Bajo Grado.[79]

El diagnóstico se confirma mediante el estudio histológico de la biopsia, que puede ser esterotáxica o quirúrgica; y ésta total o subtotal. En la biopsia esterotáxica se plantea el problema de la representatividad de la muestra, especialmente en la determinación del grado de malignidad,[228,264] que suele ser infravalorado.[128]

En el caso de los tumores pobremente diferenciados, el diagnóstico anatomopatológico y el establecimiento del grado de malignidad, se apoyan sobre parámetros clínicos y radiológicos,[100,228] y en la demostración de maduraciones incipientes mediante estudios inmunohistiquímicos o ultraestructurales.[100]

Una de las características de los Tumores Astrocíticos es la recidiva; que puede alcanzar al 85% de los casos, según series;[234,318] aconteciendo la transformación o progresión maligna en porcentajes variables, según autores.[207,234,254]

Existen actualmente diversos protocolos terapeúticos: Uno de los más difundidos consiste en la asociación de cirugía total seguida de radioterapia externa.[361] Otras veces la cirugía se sigue con la administración de nitrosureas (MeCCNU).[52,361] Y también es frecuente la asociación de cirugía, radioterapia potquirúrgica, y carmustina mas nitrosourea (BCNU).[364]

La resección quirúrgica pretende ser total, pero generalmente no puede serlo (Tabla 7). La UCSF[15] (Universidad de California, San Francisco) define la resección total como aquella en la que se extirpa al menos el 90% del tumor; y resección subtotal, la que extirpa entre un 10% y un 90% del tumor; correspondiendo las resecciones inferiores al 10% de la masa tumoral, a las biopsias.

TABLA 7: EXTENSION DE LA RESECCION QUIRURGICA

Serie / Resección	Kim[178]		Leon[200]		Werner-Wasik[364]		Barker[15]	
Total	9%	8%	21%	28%	19%	25%	11%	18%
Parcial	62%	87%	55%	72%	56%	75%	73%	82%
Biopsia	29%	-	24%	-	25%	-	16%	-
TOTAL CASOS	246		70		786		299	

La resección quirúrgica generalmente no puede ser total. Y ésta no significa necesariamente resección completa de la tumoración.

En las recidivas algunos investigadores abogan por la administración de BCNU, por su efecto sobre el metabolismo de la glucosa.[273,368] Otros estudios asocian el BCNU al interferón alpha recombinante en el tratamiento de las recidivas tumorales.[32]

El tratamiento convencional radioterápico consiste en la administración, a partir de las tres-cuatro semanas de la intervención, de dosis fraccionadas de radiación (1,7 a 2,0 Gy/día) hasta un total de 60 Gy.[84,190,201]

A lo largo de los años se han ensayado un buen número de estrategias terapeúticas; como la braquiterapia, que consiste en la aplicación de implantes radiactivos (como el ^{125}I), de manera temporal,[144] o permanente.[118] Esta técnica se utiliza en pacientes seleccionados, en combinación con otras técnicas,[144] tanto para tumores recidivantes,[17] como en los de inicial diagnóstico; mostrando un ligero aumento en el tiempo de supervivencia,[141] que puede ser mejorado en combinación con termorradioterapia (con implantación de ^{192}Ir).[324]

Así mismo, se benefician la cirugía y la radioterapia de las actuales técnicas esterotáxicas en pacientes seleccionados,[24,58,206,216] especialmente en aquellos casos de inoperabilidad, por la localización o tamaño tumoral,[190] o en las recidivas.[24,313] En estos casos la radiocirugía esterotáctica

muestra una aparente equivalencia con la braquiterapia intersticial.[313] Algunos autores no encuentran un claro beneficio de estas técnicas sobre el tratamiento tradicional;[31] e incluso para algunos otros no es recomendable el uso de la radiocirugía esterotáctica para el tratamiento del Glioblastoma Multiforme.[223]

Otros estudios encuentran utilidad en el empleo de sustancias radiosensibles, como la bromodeoxyuridina, en asociación con otras técnicas, para el tratamiento de los gliomas anaplásicos.[201,202] La administración de BSH («boron sulfhydryl») intravenoso produce un efecto selectivo de radiación sobre las células tumorales, con muy baja concentración sobre el parénquima sano.[326]

La quimioterapia intersticial, mediante impregnación con polímeros de carmustina, minimiza la toxicidad sistémica, mostrando una mejor tolerancia en recidivas de Astrocitomas Malignos.[26] El tratamiento inmunoterápico, mediante la administración intracavitaria de «interleukina-2 recombinante» y células «killer activadas-linfokinas», mejora la supervivencia en pacientes reoperados por recidiva tumoral.[148] También en estudio se encuentra el empleo de los inhibidores de la actividad de la proteina kinasa C;[14] y de la inhibición de la hexoquinasa mitocondrial.[247]

Sin embargo, a pesar de todos estos avances terapeúticos y tecnológicos, las recidivas tumorales siguen teniendo una mala respuesta al tratamiento.[364]

A ello hay que añadirle los efectos secundarios indeseables del tratamiento radioterápico:[364] Con dosis terapeúticas fraccionadas, entre 64,8 y 75,6 Gy., se han descrito reacciones dérmicas en el 74% de los pacientes; somnolencia en el 13%; ototoxicidad en el 10%; alteraciones mentales en el 8%; y áreas de necrosis cerebral en el 17% de los casos. No se ha demostrado significación estadística en la reducción de efectos tóxicos con dosis bajas fraccionadas de 48 y 54,4 Gy.[364]

También han sido descritos efectos tóxicos secundarios al tratamiento quimioterápico:[364] destacando por su frecuencia, la aparición de náuseas y vómitos en el 89% de los pacientes; leucopenia en el 78%; trombocitopenia en el 72%; y sintomatología gastrointestinal en el 39% de los casos. Las complicaciones de la cirugía son escasas, destacándose la aparición de infecciones en menos del 2% de los pacientes.[211]

En estudios sobre seguimiento de pacientes con Glioblastoma, que alcanzan los dos años de vida (sólamente un 10-15%),[4,156,203] se ha observado una alta proporción de casos de demencia y deficiencias neurológicas; encontrándose apenas un 30% de pacientes que pueden llevar una funcionalidad («status») independiente.[156] Sin embargo se han referido algunos casos de Bajo Grado, cuya recidiva fué tratada con BCNU, con una excelente calidad de vida.[44]

2.5. FACTORES PRONOSTICOS Y SUPERVIVENCIA.

El establecimiento de grupos con significación pronóstica, dentro de una determinada neoplasia, tiene su importancia por la estrategia terapeútica diferente a realizar en cada grupo.[308] La utilidad o no de esos grupos se confirma mediante el estudio de la supervivencia, con la que se da validez a los criterios o factores que los han establecido.[15,64]

Los factores o criterios, que nos permiten establecer grupos con significación pronóstica, tienen dos vertientes: unos son de ámbito clínico y otros histológicos.

2.5.1. FACTORES PRONOSTICOS DE AMBITO CLINICO:

A/. LA EDAD DEL PACIENTE: Es probablemente uno de los factores clínicos de mayor importancia, siendo referido en casi todos los trabajos. Es bien conocido que los pacientes en edad jóven tienen una mayor supervivencia,[36,178,211,283,284] debido probablemente a una mejor respuesta al tratamiento en estas edades.[119,137,284]

La diferencia de supervivencia observada, alcanza significación estadística en los grupos de edad definidos a ambos lados del «punto de corte» en torno a los 40 años;[4,36,137,284] adquiriendo mayor importancia pronóstica en las lesiones de Alto Grado histológico,[36,77,85,111,116,364]

B/. EL ESTADO DEL PACIENTE: Ha sido referida una mayor supervivencia en aquellos pacientes con Astrocitomas (incluyendo todos los grados) que presentan un rango incial en la escala de Karnofsky superior a 70;[92,171,211,360] existiendo discordancia respecto a los Tumores de Alto Grado, entre los diferentes investigadores: sin significación pronóstica para unos;[58,237] o con significación para otros.[92,200,360] Leon[200] encuentra valor pronóstico en el rango de Karnofsky superior a 70 en los tumores iniciales, pero no en sus recidivas.

Menos del 20% de los pacientes con Astrocitoma Maligno, resecado quirúrgicamente, alcanzan ese rango, en la evolución posterior a la intervención quirúrgica.[211] En términos de morbimortalidad inmediata, la biopsia esterotáxica se muestra como una técnica superior a la resección quirúrgica,[58,140,190] sin apreciarse empeoramiento clínico. Posteriormente, se le ha dado mayor valor pronóstico al «indice de Karnofsky postoperatorio».[298,360] Los valores mayores, y por tanto con mejor pronóstico, se observan en sujetos jóvenes y en tumores de localización occipital.[211]

Danks[74] refiere un mejor pronóstico en los pacientes cuya sintomatología de inicio fué epilepsia en ausencia de déficit neurológico.

C/. LA ACTITUD TERAPEUTICA: Las resecciones total y subtotal del tumor tienen mejor

pronóstico que las resecciones parciales por biopsia esterotáxica;[74,200,318] incluso mejorando la función y calidad de vida del paciente.[5] En este sentido, se ha valorado la cantidad de tumor residual, que no ha podido ser resecado tras la intervención quirúrgica, mediante estudio tomográfico computerizado, encontrándose en relación inversa con la supervivencia.[5,370]

No todos los autores coinciden con estas observaciones: así, Coffey[58] y Kreth[190] refieren supervivencias de 46 y 26 semanas respectivamente, en pacientes que recibieron biopsia esterotáxica seguida de radioterapia; no encontrando diferencias significativas con el grupo de pacientes tratados con resección quirúrgica y radioterapia.

Las reintervenciones quirúrgicas sucesivas mejoran el pronóstico, en los casos de recidivas tumorales en pacientes con edades inferiores a los 40 años.[284] Sin embargo, en sujetos adultos no se han observado diferencias de supervivencia en relación a la extensión de la resección quirúrgica de las recidivas tumorales.[200]

Son más eficaces los tratamientos que combinan la cirugía, con la radioterapia y/o la quimioterapia, alargando el tiempo medio de supervivencia.[164,243,342,364] Aunque la eficacia de la quimioterapia coadyuvante en pacientes con Glioblastoma es puesta en duda; mostrándose más eficaz, sin embargo, en el Astrocitoma Anaplásico.[342] Así mismo, ha sido puesto de manifiesto menor toxicidad y una mejor respuesta al tratamiento quimioterápico, en pacientes con edades menores de 40 años.[137,261]

Hayes y col.[148] encuentran una mejor supervivencia en pacientes que fueron sometidos a reintervención quirúrgica con administración intracavitaria de inmunoterapia, tras la recidiva tumoral, en comparación con reoperación y quimioterapia.

Brem y col.[26] refieren una supervivencia media de 7,2 meses en pacientes tratados con quimioterapia intersticial intraoperatoria, por recidiva tumoral, frente a 5,3 meses en pacientes que recibieron placebo.

Salcman[282] refiere supervivencias en pacientes con Tumores Astrocíticos Malignos, tratados con cirugía y radioterapia posquirúrgica, del 1,7% a los tres años, y prácticamente nadie a los cinco años. Posteriormente este mismo autor[284] señala que en pacientes de menos de 40 años, en los que se aunan criterios pronósticos favorables, y que reciben tratamiento agresivo multidisciplinario, con cirugía de repetición, radioterapia a altas dosis y nitrosureas, la supervivencia a los cinco años puede llegar a ser del 6%.

Los mejores porcentajes de supervivencia, referidos por la Sociedad Americana de Radioterapia Oncológica, en el Glioblastoma se obtienen con dosis fraccionadas de 76,8 a 81,6 Gy, mientras que en el Astrocitoma Anaplásico se obtienen con dosis menores, de 64 a 72 Gy., con menos

efectos tóxicos.[238,364] Sin embargo estos resultados no son confirmados por otros investigadores: Packer y col.[248] no encuentran beneficio en la administración de dosis altas hiperfraccionadas, de 78 Gy, respecto a las dosis menores convencionales, en un grupo de 66 pacientes jóvenes; en los que se observó una supervivencia del 35% al primer año.

El Grupo de Trabajo de la Sociedad Americana de Radioterapia Oncológica,[364] en una serie de 786 pacientes con Astrocitoma Anaplásico y Glioblastoma Multiforme, refieren porcentajes de supervivencia actuarial del 21% y 11% a los dos y cinco años para todos los pacientes; con un tiempo medio de supervivencia de 11,8 meses para todos los pacientes; 40,3 meses para el Astrocitoma Anaplásico, y 10,6 meses para el Glioblastoma Multiforme.

No obstante, como ya se ha referido con anterioridad, este Grupo de Trabajo incluye en un mismo grupo pronóstico («AAF») a los tumores de grado II y de grado III de la OMS. La baja concordancia institucional en el reconocimiento del grado III,[308] puede suponer un 59% de desestimación en la supervivencia media del Astrocitoma Anaplásico, determinado por algunos Centros y Grupos de Trabajo, respecto de otras Instituciones.[84]

El Grupo de Oncología de Carolina del Norte (NCOG),[201] refiere una serie de 116 pacientes con Astrocitoma Anaplásico, clasificados con criterios histológicos similares a los de las RTOG/ ECOG,[364] que fueron tratados con radioterapia convencional (60 Gy.) e infusión contínua intravenosa de radiosensibilizante, seguido de quimioterapia, alcanzando el 46% de los pacientes los 4 años de supervivencia.

Este mismo Grupo encuentra efectos beneficiosos en el empleo de radiosensibilizadores en el tratamiento de los Astrocitomas con focos anaplásicos (AAF), pero no en Glioblastomas;[202] y por el contrario, observan mejoría en la supervivencia de los pacientes con Glioblastoma tratados con braquiterapia intersticial, pero no en los casos de AAF.[144]

Coffey[58] refiere una supervivencia media para glioblastomas tratados con biopsia esterotáxica y radioterapia de 46 semanas. Otros autores[190] refieren supervivencias medias de 35,6 semanas y 39,5 semanas para los glioblastomas tratados con radioterapia asociada a biopsia esterotáxica o a resección quirúrgica respectivamente, sin mostrar esa diferencia significación estadística.

La actitud terapeútica hoy en día se ve favorecida por la alta precisión de las técnicas radioterápicas y de imagen; encontrando en ellas un valioso instrumento para mejorar el tiempo de supervivencia de los pacientes con Tumores Malignos Astrocíticos.

D/. TAMAÑO, EXTENSION, Y LOCALIZACION TUMORAL: En general, no es habitual encontrar el tamaño tumoral como variable con significación pronóstica, en trabajos de referencia sobre factores pronósticos en Gliomas Malignos;[41,77,116,178] y en los pocos trabajos en los que se

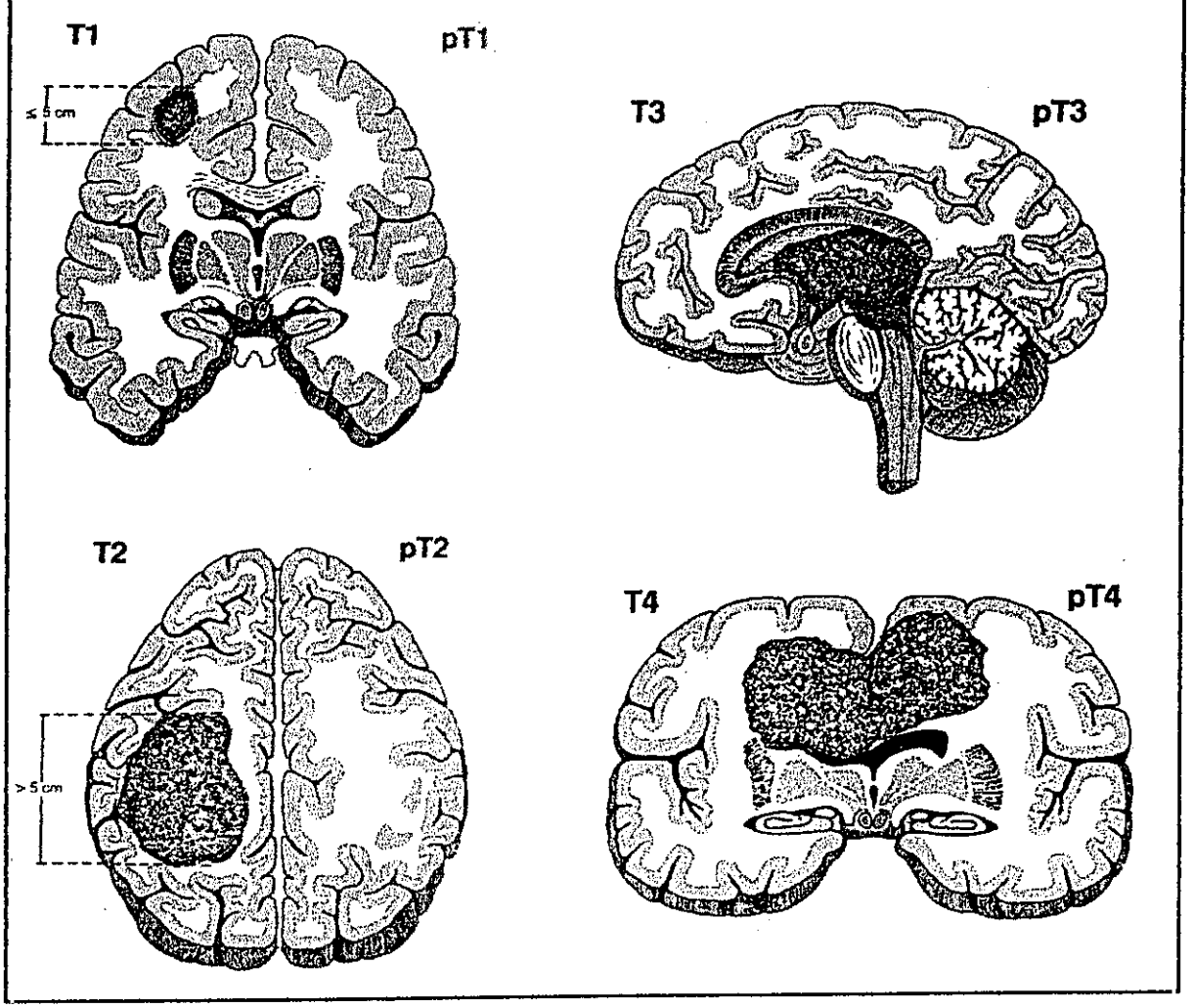
recoge, son discordantes los resultados: algunos autores no encuentran significación pronóstica en el tamaño tumoral en el momento del diagnóstico;[190,298] y por el contrario, otros sí la refieren como factor pronóstico, en relación inversa a la supervivencia.[92]

La valoración del tamaño tumoral adquiere mayor importancia en los Tumores Astrocíticos de Bajo Grado; siendo en estos casos, como refiere la Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer (EORTC),[170] de un alto valor pronóstico, y con significación además en la progresión hacia Alto Grado.

El tamaño tumoral se encuentra recogido en el Sistema de Clasificación Clínica TNM de los Tumores Cerebrales.[329,341] En él se establecen cuatro estadios (Graf. 10):

- T-1: Tumor de 5 cm. o menor tamaño, limitado a un hemisferio.
- T-2: Tumor mayor de 5 cm, limitado a un hemisferio.
- T-3: El tumor invade o protuye dentro del sistema ventricular.
- T-4: El tumor infiltra la línea media, cruza al hemisferio opuesto, o infiltra estructuras infratentoriales.

Gráfico 10
EXTENSION TUMORAL
(Tomado de la UICC. Ref. 341)



En los tumores cerebrales primarios no entra en consideración el parámetro N/pN. En relación a la extensión y/o localización tumoral, algunos autores[360] encuentran peor pronóstico en los tumores con afectación profunda (T4); mientran que otros[58,190] refieren similar pronóstico entre los casos con afectación profunda y superficial.

No se ha encontrado influencia pronóstica en la afectación derecha o izquierda hemisférica.[190] En cuanto a la localización tumoral, Kim[178] encuentra que los tumores que afectan a varios lóbulos tienen peor pronóstico que los limitados a uno sólo. En los tumores limitados a un sólo lóbulo, algunos autores refieren peor pronóstico para los de localización parietal, y mayor supervivencia en los de localización occipital.[211,363] Si bien, estos hallazgos no están confirmados en otros trabajos.[74,77,178]

E/. TECNICAS DINAMICAS DE IMAGEN: La tomografía por emisión de positrones (PET) con (18F)-fluoro-2-deoxy-D-glucosa está siendo investigada por sus implicaciones pronósticas en los Gliomas Malignos, como consecuencia de la respuesta de estos tumores a la quimioterapia.[273,368] Esta propuesta se basa en la relativa mayor resistencia de las células hipóxicas al tratamiento quimioterápico dependiente del efecto citotóxico producido por la producción de radicales libres.[60] Los cambios en el metabolismo de la glucosa, detectados por esta técnica en el tejido tumoral, tienen valor predictivo de la supervivencia de los pacientes, en función de la respuesta al tratamiento.[368]

2.5.2. FACTORES PRONOSTICOS HISTOLOGICOS:

A/. EL GRADO DE MALIGNIDAD HISTOLOGICA: Es el principal factor pronóstico en este tipo de tumores;[298] y por tanto constituye el criterio básico utilizado en las Clasificaciones para establecer subtipos con significación pronóstica (Tabla 1). El concepto de «grado» (o grado histológico) aparece recogido en el Tratado de Patología de Robbins:[67] «La graduación del cáncer se basa en el grado de diferenciación de las células tumorales y el número de mitosis en el interior del tumor, como supuestos correlatos de la agresividad de la neoplasia». Esta asociación entre «grado» y «agresividad» ha sido demostrada por Tubiana y Courdi,[340] en los tumores de crecimiento sólido.

El establecimiento del GRADO no siempre tiene una alta concordancia entre patólogos.[64,298,308,364] Esto es debido, por una parte, a que no se encuentra bien definido qué criterios histológicos corresponden a cada grado (Tabla 2), con aparición de diversidad de sistemas[77,78,176,182,308] (Tabla 5); siendo por tanto difícil su reproductibilidad, aplicandose de forma subjetiva.[116,298,178] Y por otra parte, a que en resecciones parciales resulta hazaroso,[128,298] puesto que puede existir variabilidad histológica en las diversas áreas de la tumoración.[37,62,252,281] En estos casos, la presencia de un foco de alto grado de malignidad hace que el tumor se comporte como los que lo muestran en toda su extensión.[117,239,287,298]

Los pacientes con Astrocitoma Anaplásico procedente de la transformación maligna de un Astrocitomas Difuso previo, tienen una supervivencia similar a aquellos con Astrocitoma Anaplásico de novo.[87]

La validez predictiva de las Clasificaciones, por grados de malignidad histológica, se verifica mediante el Estudio de Supervivencia de los pacientes afectados:[15,64]

- El grado 1 (Astrocitomas Pilocíticos): Tienen una supervivencia alta, tanto para los de localización cerebelosa, con el 81% de sobrevida a los diez años;[149] como para los (menos frecuentes) localizados en hemisferios, con supervivencias del 74% al 100% de los pacientes a los diez años;[4,360] encontrándose influenciada por la extensión de la resección quirúrgica.[110] La supervivencia media (postoperatoria) en este grupo es de 5,91 años.[57]

- El grado 2 (Astrocitomas Difusos): Tienen una supervivencia media de 41,9 meses[318] a 43 meses,[178] con porcentajes que varían, según series, desde el 44% a 55% de supervivencia a los cinco años,[318,178] hasta sólo el 25% de supervivencia también a los cinco años.[298]

- Los grados 3 y 4 (Astrocitoma Anaplásico y Glioblastoma Multiforme, respectivamente): El tiempo de supervivencia observado para estos grados difiere, en ocasiones en gran medida, debido fundamentalmente a la poca concordancia diagnóstica entre los diversos Centros e Instituciones,[64,308] con diferentes Sistemas de Clasificación aplicados.

Algunos autores, aplicando los criterios de la OMS., refieren supervivencias medias de 8 a 10 meses para el Glioblastoma, y de 25 a 38 meses para el Astrocitoma Anaplásico.[36,41,239,360] Salcman[284] refiere supervivencias de 14 y 22 meses para los grados III y IV, que se ven modificadas cuando se asocian a otros factores. Así, pacientes mayores de 40 años con grado IV y tratados únicamente con cirugía tienen una supervivencia media de 7 meses; mientras que pacientes jóvenes con grado III pueden alcanzar una media de 41 meses.

Este mismo autor,[282] hace una recopilación histórica de 1.561 casos publicados de Astrocitomas Malignos, refiriendo que sólamente el 1,7% de ellos superó los 3 años de vida. En un trabajo recopilatorio más reciente, Alvord[4] al igual que otros investigadores,[156,203] refiere que sólamente un 10% de los pacientes sobrevive a los 2 años. Barker[15] en 1996, refiere una serie de 299 Astrocitomas Malignos de grado IV, que mostraron una supervivencia media de 10,9 y 12,5 meses según presentaran o no necrosis, respectivamente.

A pesar de ello, a lo largo de los años siempre se van refiriendo casos aislados de Astrocitomas de Alto grado con «larga supervivencia», como los de Netsky,[240] que refiere dos casos de pacientes jóvenes que sobrevivieron 7 y 14 años. O la serie de Levin,[201] en la que refiere 116 pacientes con «Astrocitoma Anaplásico», de los que 87 paciente mostraron una supervivencia media de 5,2 años; alcanzando el 46% los cuatro años de vida.

Cada vez son más los autores que no encuentran diferencias significativas de supervivencia entre los dos Grupos histológicos de Alto Grado;[63,154,286,360] aunque los tumores con necrosis tuvieran una menor media de supervivencia.

Otros trabajos, que emplean el sistema de Daumas-Duport, como el de Kim,[178] o el propio de Daumas-Duport,[77] refieren similar supervivencia media para el Glioblastoma, con 8 meses; y 14 y 18 meses para el Astrocitoma Anaplásico, respectivamente. Theunissen[333] refiere 7-8 meses para los grados 3 y 4, sin diferencias significativas en la supervivencia media de los dos grupos histológicos.

B/. PARAMETROS HISTOLOGICOS CONSIDERADOS AISLADAMENTE: Desde los tiempos de Kernohan[176] hasta nuestros días, se conoce la relación directa que existe entre la malignidad tumoral y la presencia de determinados hechos histológicos, como la necrosis, angiogénesis, mitosis, pleomorfismo, y densidad celular; hechos ampliamente difundidos, y aceptados por toda la Comunidad Científica.

En relación a los Astrocitomas Malignos, se han valorado también, otros hechos: Como la presencia de gemistocitos,[41,298,362] que puede venir asociada a la transformación anaplásica astrocítica de las formas Difusas de bajo grado.[362] La presencia de células pequeñas isomorfas, como expresión de una mayor desdiferenciación astrocítica;[41,100] si bien su presencia carece de significación pronóstica en el contexto de Gliomas Malignos.[41] Tampoco parecen tener significación pronóstica, en los tumores de Alto Grado, la presencia de células gigantes atípicas,[172] ni el componente sarcomatoso de algunas formas de Glioblastoma.[29,64]

El infiltrado linfocítico perivascular ha sido valorado por diversos investigadores con discordante significación pronóstica.[41,196,298,347] Así mismo, no sólo se ha investigado la validez pronóstica de la presencia de MVP,[15,41] sino también la densidad de la proliferación microvascular,[200,366] aunque estos últimos dos trabajos muestran discordancia en los resultados de sus series, que además aparecen con diferente Sistema de graduación tumoral.

C/. ESTUDIOS CITOGENETICOS: La asociación entre aneuploidía y pronóstico favorable ha sido observada por algunos investigadores,[287,288] pero no por otros.[7,127] También se han obsevado alteraciones cromosómicas en relación a una menor supervivencia, como las que afectan a los cromosomas 7 y 10.[116] La alteración del gen p53, con anormal acúmulo de oncoproteina p53, carece de correlación pronóstica en el Astrocitoma Anaplásico;[74] pero parece implicado en la progresión tumoral del Astrocitoma Difuso hacia formas de Alto Grado.[199]

3.MARCADORES TUMORALES DE DIFERENCIACION Y PROLIFERACION CELULAR.

3.1. MARCADORES DE DIFERENCIACION ASTROGLIAL: LA PROTEINA GLIOFIBRILAR ACIDA (GFAP).

La GFAP es una proteina de 48-50 kDa., que forma parte del citoesqueleto astrocitario.[95] Fué aislada por Eng[96] en 1971, en un caso de esclerosis múltiple (Fig. 13). Contra ella se han desarrollado anticuerpos poli y monoclonales, que permiten su marcaje e identificación. Fué localizada por primera vez por Bignami[18] en astrocitos fibrosos («fibrilares»), mediante técnica de inmunofluorescencia; y posteriormente se ha extendido su marcaje mediante la utilización de técnicas de inmunoperoxidasa en cortes de parafina.[22,66,72,89]

Figura 13
PROTEINA GLIOFIBRILAR ACIDA (GFAP)

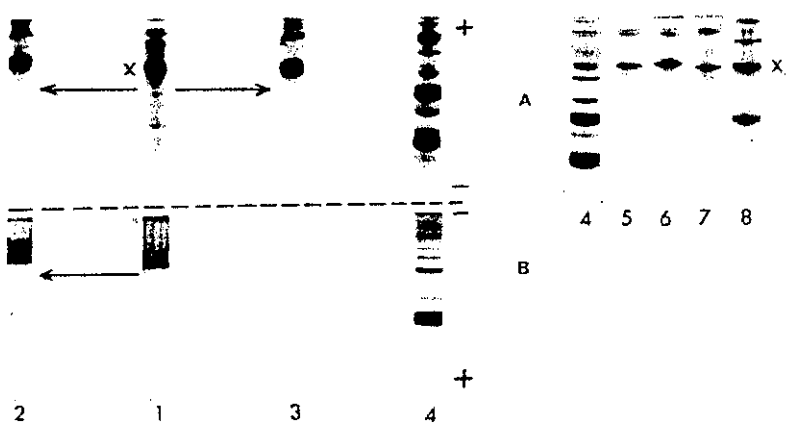


Imagen del articulo original publicado por Eng y col. (Ref. 96) en la que se identifica la GFAP en la banda X de electroforesis de tejido nervioso rico en astrocitos fibrilares

Según refiere Danks,[75] la expresión de GFAP es la «llave» de caracterización del astrocito, aunque no es exclusiva de estas células. La proteina gliofibrilar ácida (PGFA) constitye el principal componente de los filamentos gliales, que son un tipo de filamento intermedio del citoesqueleto.[95]

Se encuentra no sólo en astrocitos maduros, sino también en sus células precursoras embrionarias,[54] y en las células astrocitarias patológicas.[66,209,263] Es observada también en oligodendrocitos gliofibrilares (GFOC), en gemistocitos y en microgemistocitos;[191,225] así como también en células ependimarias y hasta en células de Schwann del sistema nervioso periférico.[33,263]

Bonnin y Rubinstein[22] refieren que generalmente su expresión es negativa en las células neuroepiteliales primitivas, células ganglionares, epitelio de los plexos coroideos, endotelio vascular, células meníngeas, fibroblastos, y otras células mesenquimales.

La PGFA hace su aparición en las células de la glía radial, detectándose ya a las diez semanas del desarrollo embrionario, en el cortex cerebral.[54] Su identificación en la glía radial de cerebro humano fetal fué inicialmente puesta de manifiesto a las 18 semanas, por Antanius y Choi[6] mediante técnica de inmunofluorescencia indirecta.

También, su aparición ha sido puesta de manifiesto in vitro, mediante cultivo de células inmaduras neuroectodérmicas, que expresan el antígeno GD3 en suero fetal de ternero; observándose que dichas células se diferencian en sentido astrocítico a los pocos días, adquiriendo expresión de GFAP.[53] Su expresión in vitro puede modularse mediante factores hormonales, como la insulina, la hidrocortisona, prostaglandinas y factor de crecimiento fibroblástico.[233]

Los factores hormonales ejercen su efecto a través del sistema de la adenil ciclasa por mecanismo desconocido; y los altos niveles de cAMP, que acompañan a la degeneración neuronal, concomitantemente producen gliosis.[125] Así mismo se estimula la gliosis por procesos que alteran la barrera hematoencefálica y exponen a los astrocitos en contacto con los factores séricos.[53]

Tras su descubrimiento, la GFAP se ha aplicado extensamente en el estudio de los tumores gliales;[66,80,81,,89,348] pudiendo resultar de gran utilidad en el marcaje de smear citológicos,[157] y en la identificación de metástasis.[133] Las reacciones negativas pueden deberse a demoras en la fijación de la biopsia, porque la mayor parte de la GFAP es soluble y puede perderse antes de que el tejido haya sido procesado.[22,54,80,263]

Se aprecia tinción positiva en Astrocitomas de cualquier grado de malignidad,[80,135,179,214,276] y en las áreas más diferenciadas de los glioblastomas;[91,97,135,274] marcándose muy bien los glioblastomas de células gigantes.[213,214] La menor intensidad de tinción en Astrocitomas Anaplásicos y Glioblastomas se encuentra en relación inversa al índice de proliferación, obtenido mediante marcaje, con autorradiografía, de la fase S del ciclo celular.[195]

Aparece también positividad en las células neoplásicas de pequeño tamaño de los Astroblastomas;[81,278] tumores ependimarios;[81,90,179,304] y zonas de diferenciación astrocítica en tumores de la pineal.[151,317] Su utilidad se ha demostrado también en la localización de los elementos astrocíticos de entidades tumorales poco frecuentes, como el Subependimoma,[272] el Astrocitoma Subependimario de Células Gigantes,[236] Xantoastrocitoma Pleomórfico,[175,250] Gliosarcoma,[91,138] Ganglioglioma,[135] y Angioglioma.[21]

La positividad que se encuentra con frecuencia en las células estromales de los

Hemangioblastomas,[82,175] se interpreta como de astrocitos transformados,[134,135,175] o por fagocitosis de GFAP en vecindad.[22,82,276] Y la positividad identificada en células aisladas de los papilomas de plexos coroideos,[189,277,331] se interpreta como diferenciación ependimaria focal.

Hay así mismo acuerdo en el buen marcaje que se obtiene en las zonas astrocitarias de los Oligoastrocitomas, así como en algunas formas de oligodendrocitos neoplásicos,[194,235,330] aunque no son reconocidas por otros autores.[348] No obstante, parece fuera de toda duda la existencia de un tipo de oligodendrocito tumoral con capacidad para producir gliofilamentos, el «oligodendrocito gliofibrilar»,[150,191] implicado en la transición de Oligodendrogliomas a formas mixtas oligoastrocitarias.[191,225]

Se han obtenido resultados positivos en buen número de Meduloblastomas,[71] Meduloepitiliomas,[42] y Tumores Neuroectodérmicos Primitivos,[136,139] en los que representaría un dato de diferenciación y mejor pronóstico,[113] o unicamente glía reactiva y no auténtico componente tumoral.[59,337] Hallazgos de gran inespecificidad supondrían los marcajes referidos en tumores como el Adenocarcinoma renal y el Adenoma Pleomorfo de glándula salivar.[34]

En combinación con el marcaje con Vimentina hay quien encuentra una correlación práctica, viendo como la mayor anaplasia lleva a menores tinciones con GFAP y más altos con Vimentina;[215,354,373] relación que se mantendría también en Oligoastrocitomas.[374] Sin embargo, algunos autores[91,348] consideran poco fiable la expresión de GFAP como parámetro pronóstico, debido a la fuerte positividad que algunos glioblastomas muestran; y por otro lado, a la heterogeneidad regional observada en su expresión.[188,299] En los casos de transformación anaplásica de formas mixtas oligoastrocíticas, no se ha encontrado diferencia significativa de supervivencia entre tumores con mayor o menor expresión de GFAP.[191]

Su expresión es difícilmente cuantificable: en parte debido a la presencia de astrocitos «atrapados» y reactivos GFAP positivos en la neoformación,[4,22,101,184] (Fig. 11B), y también a la presencia de células gigantes de carácter regresivo que acumulan GFAP junto a otros astrocitos atípicos neoplásicos GFAP negativos,[100] (Fig. 6B y 10B); y por otra parte a su complejidad, al marcar tanto el soma como las prolongaciones citoplasmáticas. Por todo ello, resulta difícil establecer una valoración objetiva de la expresión de GFAP que sea reproducible; por lo que no se ha generalizado su utilización como factor pronóstico.[196]

3.2. MARCADORES DE PROLIFERACION CELULAR: EXPRESION DEL ANTIGENO DE PROLIFERACION CELULAR Ki-67.

El antígeno Ki-67 fué descubierto durante la producción de anticuerpos específicos para antígenos nucleares de células de linfoma Hodgkin (línea L428).[122] El anticuerpo monoclonal Ki-67 reconoce un antígeno de proliferación celular conocido como «antígeno Ki-67», que se detecta sólamente en las células incluidas en el ciclo celular.[113,120,122,220]

Gerdes[122] lo puso en evidencia y su utilización es muy amplia, pero la estructura y función del mismo no son bien conocidas todavía.[338]

El antígeno Ki-67 no es específico de la especie humana. Se ha encontrado en simios, conejo, rata y cordero.[105,353] Tampoco es específico de un determinado tejido u órgano de la Economía.[219] Todas las células proliferantes muestran positividad para el Ac anti Ki-67, excepto las células recientemente proliferadas, como las profundas de las criptas intestinales,[219] o las células de la médula ósea normal, a pesar de ser un tejido muy proliferante.[343]

Se trata de una proteina no histona, de peso molecular 345 y 395 kDa.,[121,220] (Fig. 14), correspondientes a dos subunidades; que presenta similitudes con la ADN topoisomerasa II.[25,344] Puede ser un factor implicado en la estructuración de los cromosomas, y también un factor de regulación de la actividad postranscripcional de los genes ligados a la proliferación celular, no como iniciador sino como regulador.[25] El gen que codifica el Ki-67 se encuentra en el braza corto del cromosoma 10 (10q25).[219,303]

Cooper[65] sugiere que actúa como un «reloj molecular». Sin embargo, el Ki-67 no es esencial para la proliferación celular: Schonk[303] ha referido proliferación en algunas células híbridas en ausencia de antígeno Ki-67; y otros autores[12,198,291,352] encuentran negatividad de Ki-67 en células incluidas en el ciclo, detectado por citometría de flujo. Si bien otros autores[143] no han constatado estos hechos.

El Ki-67 es un antígeno nuclear, aunque ocasionalmente se ha encontrado reactividad del anticuerpo en el citoplasma. Ello puede ser debido a que exista asociación entre el antígeno Ki-67 y el RNA mensajero «latente»;[306] o bien a artefacto, asociado con la muerte celular.[25,45]

El antígeno Ki-67 se expresa durante las fases G1, S, G2 y M del ciclo celular:[30] Se empieza a detectar en la fase G1 del ciclo celular, aumentando durante el ciclo, y alcanza su máxima expresión en la fase de postsíntesis (G2), descendiendo rápidamente después de la mitosis. No es evidente en células que pasan del estado de reposo G0 a G1 (G1 inicial).[12,152,292]

Verheijen[351] ha demostrado que el antígeno Ki-67 se localiza durante la interfase en el córtex nucleolar y en los componentes fibrilares densos; lo que sugiere a Brown[28] que el antígeno está asociado con la denominada matriz nuclear de filamentos intermedios.

El Ki-67 presenta una localización exclusivamente nuclear, existiendo variaciones de intensidad durante el ciclo.[198,292,365] Así, de la fase G1 a la fase de mitosis puede incrementarse dos veces,[365] tres veces,[292] o seis veces,[143] según cuantificaciones de diferentes autores. Este aumento es máximo al final de la fase S para unos,[291] y entre la fase G2 y la mitosis para otros.[30,198] Al principio de la fase G1 existe una bajada en la intensidad de tinción para el Ki-67, que decrece repentinamente para comenzar el ascenso progresivo hasta la mitosis; este pico inferior indica el comienzo de la síntesis del Ki-67.[88]

El cambio a lo largo del ciclo celular para la tinción del Ki-67 no es sólo cuantitativo, sino también en cuanto a repartición topográfica dentro del núcleo celular:[25,88,143,344] Así durante la fase G1 la tinción primero es nucleoplásmica, y luego pasa rápidamente a ser nucleolar y perinucleolar; en la fase S se extiende al nucleoplasma, siendo aún todavía más evidente en el nucleolo; en la fase G2 se reparte más o menos uniformemente por todo el núcleo, y entonces la predominancia nucleolar ya no es perceptible.

Durante la mitosis se produce una tinción intensa en la profase, localizándose en la periferia de los cromosomas durante la metafase.[10,143,352] Tanto en anafase como en telofase la tinción sufre una redistribución topográfica, haciéndose granular y desapareciendo al final de la telofase.[344,352]

Desde su aparición, han sido numerosos los trabajos que se refieren a este antígeno. El mayor obstáculo para aplicar su detección radicaba en que el anticuerpo Ki-67 detectaba la actividad nuclear en tejidos frescos y en cortes en congelación.

En el año 1990 se publicaron la clonación y secuencia del gen Ki-67[121] (Figs. 14 y 15) y subsecuentemente surgió un nuevo anticuerpo monoclonal: «MIB-1»[47], que reacciona con el Ki-67 nativo y su proteina recombinante, y a difencia del anticuerpo Ki-67 pude ser utilizado en tejidos fijados y parafinados.[47,168,219,312] El anticuerpo MIB-1 es un péptido sintetizado de una región de 62 pares de bases del gen Ki-67; y esta región presumiblemente encoda con el epitopo del Ki-67;[121] aunque otros autores[219] suponen que marca probablemente epítopes distintos al homólogo usado para material congelado.

Frente a otros marcadores de proliferación celular utilizados, el MIB-1 ofrece ventajas: respecto al PCNA, porque la Ki-67 no sufre modificaciones cuando existe escisión-reparación del DNA.,[219,335] ni parece estar influenciada por factores de crecimiento, como posiblemente lo esté la PCNA.[161] En general, la técnica del MIB-1 es menos compleja y más accesible que la realizacicón de citometrías de flujo y estática, o que el recuento numérico de AgNORs, y que el índice de

marcaje con bromodeoxyuridina (BUdR).[210,245]

Además, la vida media de la proteina Ki-67 es muy corta,[30] catabolizándose rápidamente al final de la mitosis,(fase M),[30,268] con la consiguiente rápida disminución de su concentración nuclear;[25,30,120,220] por lo que sólo se detectará marcaje en células dentro del ciclo celular;[113,120,122,220] contrariamente a lo que sucede con la PCNA, que debido a su vida media larga,[307] puede aún ser detectada en células que ya han terminado el ciclo.[220]

Una caracteriatica general de los tumores sólidos es la alta asociación entre la actividad proliferativa y el grado de agresividad tumoral.[340] La utilización del anticuerpo MIB-1, para la detección del antígeno Ki-67 en cortes en parafina, nos permite realizar estudios retrospectivos del material archivado, dado que es creciente la evidencia de que el contenido de Ki-67 se correlaciona con el curso clínico de la enfermedad, en diversos tipos de tumores.[23,46,104,123,142]

En el campo de los Tumores Astrocíticos, recientes trabajos[93,180,229,258,285,360] han encontrado relación entre la expresión de Ki-67 (índice proliferativo), y la supervivencia; pudiendo ser utilizado el índice de expresión de Ki-67 como un indicador pronóstico.

Es más dudosa su relación con el grado histológico; observándose diferencias en la expresión de la Ki-67 entre los grupos de Alto y Bajo Grado, pero no entre los dos tipos tumorales de Alto Grado (Grados III y IV), hecho que ha sido puesto de manifiesto por diversos autores;[40,83,168,229,251,255,339] contrariamente a lo referido en otros estudios.[180,181,258,376] Tampoco se ha encontrado correlación entre el índice de MIB-1 (expresión de KI-67) y la proliferación microvascular.[366]

Por otra parte, es también conocida la heterogeneidad en la actividad proliferativa tumoral, con áreas de más o menos actividad, con la consiguiente variabilidad zonal en la expresión de Ki-67.[28,40,62,73,305] Brown,[28] basándose en el trabajo de Verheijen[352] en el que demuestra la pérdida del antígeno Ki-67 en células privadas de nutrición, responsabiliza a los factores nutricionales de la varibilidad de expresión observada.

Para valorar la actividad proliferativa tumoral se han desarrollado métodos de contaje celular, expresando la relación entre células en mitosis y células fuera del ciclo celular mediante un índice de proliferación («IP»): valor de «Ki-67IP».[220,229,305,360]

Figura 14
PROTEINA Ki - 67

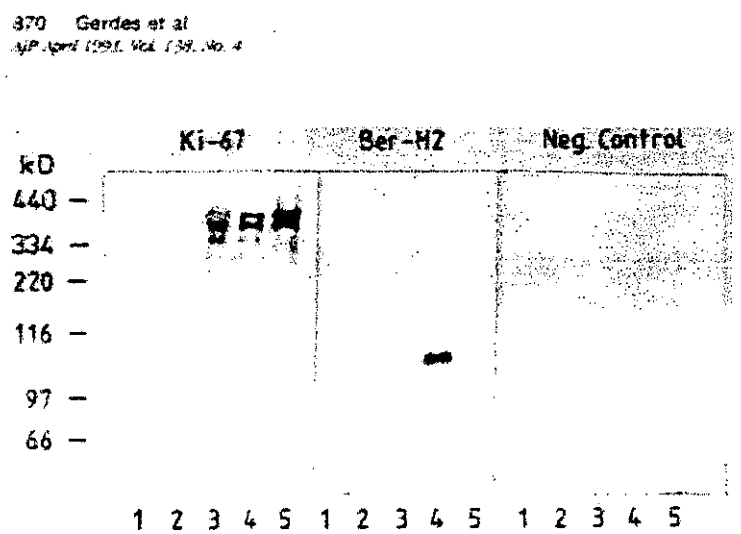


Imagen del artículo original publicado por Gerdes (Ref. 121) en la que se identifica la Ki-67 como una doble banda de peso molecular 345 y 395 Kd., en las tiras de electroforesis 3,4 y 5 correspondientes a fragmentos de células proliferantes.

Figura 15
FRAGMENTO DEL GEN Ki - 67

```
TTCTTAGCAC TCAGGAAACT AACACCATCA GCAGGGAAAG CCATGCTTAC GCCCAAACCA   60
GCAGGAGGTG ATGAGAAAGA CATTAAAGCA TTTATGGGAA CTCCAGTGCA GAAACTGGAC  120
CTGGCAGGAA CTTTACCTGG CAGCAAAAGA CAGCTACAGA CTCCTAAGGA AAAGGCCCAG  180
GCTCTAGAAG ACCTGGCTCC CTTTAAAGAG CTCTTCCAGA CTCCTGGTCA CACCGAGGAA  240
TTAGTGGCTG CTGGTAAAAC CACTAAAATA CCCTGCGACT CTCCACAGTC AGACCCAGTG  300
GACACCCCAA CAAGCACAAA GCAACGACCC AAGAGAAGTA TCAGGAAAGC AGATGTAGAG  360
GGAGAACTCT TAGCGTGCAG GAATCTAATG CCATCAGCAG GCAAAGCCAT GCACACGCCT  420
AAACCATCAG TAGGTGAAGA GAAAGACATC ATCATATTTG TGGGAACTCC AGTGCAGAAA  480
CTGGACCTGA CAGAGAACTT AACCGGCAGC AAGAGACGGC CACAAACTCC TAAGGAAGAG  540
GCCCAGGCTC TGGAAGACCT GACTGGCTTT AAAGAGCTCT TCCAGACCCC TGGTCATACT  600
GAAGAAGCAG TGGCTGCTGG CAAAACTACT AAAATGCCCT GCGAATCTTC TCCAGCCAGAA  660
TCAGCAGACA CCCCAACAAG CACAAGAAGG CAGCCCAAGA CACCTTTGCA GAAAAGGGAC  720
GTACAGAAGG AGCTCTCAGC CCTGAAGAAG CTCACACAGA CATCAGGGGA AACCACACAC  780
ACAGATAAAG TACCAGGAGG TGAGGATAAA AGCATCAACG CGTTTAGGGA AACTGCAAAA  840
CAGAAACTGG ACCCAGCAGC AAGTGTAACT GGTAGCAAGA GGCACCCAAA AACTAAGGAA  900
AAGGCCCAAC CCCTAGAAGA CCTGGCTGGC TGGAAAGAGC TCTTCCAGAC ACCAGTATGC  960
ACTGACAAGC CCACGACTCA CGAGAAAACT ACCAAAATAG CCTGCAGATC ACAACCAGAC 1020
CCAGTGGACA CACCAACAAG CTCCAAGCCA CAGTCCAAGA GAAGTCTCAG GAAAGTGGAC 1080
GTAGAAGAAG AATTC
```

Fragmento de 1095 - bp del gen Ki-67, que contiene secuencias repetitivas de 300 - bp, en las que se identifica una secuencia de 62 - bp de forma repetitiva con altos niveles de homologia (en subreyado). Esta secuencia, o parte de ella, encoda para el epitopo que es detectado por el Ac - Ki-67 (Tomado de Gerdes. Ref. 121)

JUSTIFICACION, HIPOTESIS, Y OBJETIVOS

1. JUSTIFICACION.

Los Tumores Astrocíticos son tumores que tienen su origen en el astrocito maduro. En el proceso carcinogénico, se produce la pérdida de las características propias de la célula madura, con un retroceso en su escala madurativa (desdiferenciación), y la aparición de maduraciones anómalas (atipia). En conjunto, estos procesos dan lugar a una población celular tumoral PLEOMORFICA. Paralelamente al proceso de desdiferenciación, se produce un aumento de la actividad proliferativa, con incremento del número de MITOSIS, que da lugar a una mayor densidad celular. La alteración en la relación entre densidad celular y vascularización conduce a la aparición de fenómenos de NECROSIS; a pesar de que en estos tumores tiene lugar un proceso de ANGIOGENESIS, que en el caso de los Astrocitomas Malignos adquiere rasgos morfológicos de «proliferación endotelial» con personalidad propia.

Estos fenómenos: pleomorfismo celular, presencia de mitosis, angiogénesis y necrosis, se están utilizando desde antaño (Kernohan 1949) hasta nuestros días, como variables pronósticas histológicas, que permiten establecer «Grupos» con significación predictiva del comportamiento biológico tumoral; siendo aplicados en las Clasificaciones de los Tumores de origen Astrocítico de la OMS.

En su primera Clasificación (Zülch 1979), la OMS considera al Glioblastoma Multiforme en un Grupo de Tumores denominado «Pobremente diferenciados y embrionarios», distinto del Grupo de Tumores «Astrocíticos». Posteriormente, dada la naturaleza astrocitaria del Glioblastoma Multiforme, es introducido en el Grupo de Tumores Astrocíticos, como aparece en la última Clasificación de la OMS. (Kleihues 1993). Esta incorporación plantea el problema de diagnóstico diferencial entre el Astrocitoma Anaplásico (Astrocitoma con características pleomórficas intensas y de desdiferenciación, que ya existía en el Grupo de Tumores Astrocíticos) y el Glioblastoma Multiforme, dado que este último es también un Tumor Astrocítico con características anaplásicas de desdiferenciación.

La OMS. establece cuatro Grados de malignidad, dentro del Grupo de Tumores Astrocíticos, y asigna el grado III al Astrocitoma Anaplásico y el grado IV al Glioblastoma Multiforme. Pero existen discrepancias en la aplicación de los criterios histológicos para definir los distintos grados; siendo diferente la definición que de ellos hacen la OMS, la Clínica Mayo, o la Sociedad Americana de Radioterapia Oncológica. De manera que hoy en día, la vaga definición y/o subjetiva interpretación de los grupos, hace controvertida la aplicación y reproductividad de estos sistemas.

La importancia en el establecimiento de los «grados de malignidad» no es sólo por su capacidad de pronosticar la supervivencia de los pacientes, sino también por su implicación en la conducta terapeútica diferente que han de seguir, y los efectos secundarios indeseables derivados de la misma.

La capacidad predictiva de los distintos Grupos, según su grado, tiene validez si se confirma mediante el «Estudio de la supervivencia» de los pacientes. En este sentido, los criterios histológicos clásicos referidos establecen diferencias significativas de supervivencia entre los Astrocitomas de grado I, con supervivencia del 75-100% de los pacientes a los 10 años (Forsyth 1993); los Astrocitomas de grado II, con supervivencias medias de 5-6 años (Ganju 1994); y el conjunto de Astrocitomas Malignos (grados III y IV), con una supervivencia media en torno a 1 año, tanto por el Sistema de la OMS (Salcman 1994); como por el de la Clínica Mayo (Barker 1996).

Sin embargo, existe muy poca diferencia de supervivencia entre los dos grupos de Alto Grado, lo que viene a poner en duda la utilidad verdadera de la aplicación de los criterios utilizados por ambos Sistemas, en la definición de dichos grupos.

Una razón para ello podría ser que en estos dos sistemas (OMS. y C.Mayo) se utilizan criterios que, aunque están relacionados con la fisiopatología de la oncogénesis tumoral, no utilizan elementos propios de la célula tumoral, sino hechos empíricos pronósticos como la necrosis y la angiogénesis; por lo que la distinción entre estos tumores (Astrocitoma Anaplásico y Glioblastoma Multiforme) es así artificial y sin una base histogénica, propia de la población astrocítica neoformada, que es en donde se debe basar toda tipificación en subtipos tumorales.

Por ello, partiendo también de la fisiopatología tumoral, en su proceso de oncogénesis, nos hemos propuesto estudiar el grado de diferenciación-desdiferenciación celular, mediante la cuantificación de la proteina GFAP presente en el citoesqueleto del astrocito atípico; y su actividad proliferativa, mediante la cuantificación de la proteina Ki-67 presente en el núcleo de la célula tumoral. Mediante el estudio de estos marcadores celulares, se pretende obtener unos grupos con significación pronóstica, definidos sobre una base histogénica tumoral, y reproducibles objetivamente.

2. HIPOTESIS.

EN EL PROCESO DE ONCOGENESIS ASTROCITICA, SE PRODUCE UNA PROGRESIVA DESDIFERENCIACION CELULAR ASOCIADA A UN INCREMENTO EN SU ACTIVIDAD PROLIFERATIVA; HECHOS RELACIONADOS CON LA AGRESIVIDAD TUMORAL.

LA EXPRESION DE LAS PROTEINAS GFAP Y Ki-67 SON RESPECTIVAMENTE MARCADORES DE DIFERENCIACION ASTROCITICA Y DE LA ACTIVIDAD MITOTICA CELULAR.

POR LO TANTO, LA CUANTIFICACION DE LA EXPRESION DE ESTOS MARCADORES CELULARES NOS DEBERA PERMITIR ESTABLECER EN ESTOS TUMORES DIFERENTES GRUPOS PRONOSTICOS.

3. OBJETIVOS.

1.- Verificar si dentro del conjunto de Tumores Astrocíticos de Alto Grado existen diferencias de supervivencia que juntifiquen el establecimiento de varios Grados.

2.- Si existen diferencias de supervivencia significativas dentro de la Serie, verificar si la expresión de Ki-67 y la expresión de GFAP son variables con significación pronóstica independiente.

3.- Construir un modelo de clasificación pronóstica basado en la expresión de los marcadores celulares de proliferación (expresión de Ki-67) y diferenciación (expresión de GFAP), que sea reproducible.

4.- Definir, con este nuevo Sistema, al Astrocitoma Anaplásico (Astrocitoma grado III) y al Glioblastoma Multiforme (Astrocitoma grado IV); estableciendo cual es la supervivencia referida para cada Grupo.

5.- Comparar el Nuevo Sistema con los Sistemas Previos: En relación a su significación pronóstica, grado de concordancia, y capacidad discriminante.

MATERIAL Y METODO

1. PACIENTES: CRITERIOS DE INCLUSION.

Hemos realizado un estudio retrospectivo sobre una Serie de 81 pacientes con Astrocitomas de Alto Grado, diagnosticados e intervenidos quirúrgicamente en el Hospital Militar Universitario del Aire, en el periodo de tiempo comprendido desde 1982 hasta 1994; habiendose realizado seguimiento de todos ellos hasta su fallecimiento.

Revisamos en primer lugar los archivos de datos y de cortes histológicos del Servicio de Anatomía Patológica, obteniendo un listando de todos los pacientes con Tumores Astrocíticos, que totalizaban 163 casos, de los que fueron confirmados tras el original diagnóstico 101 casos de Astrocitomas Malignos (grados III y IV de la OMS), de localización supratentorial. No fueron consideradas las formas mixtas oligoastrocíticas malignas.

Fueron incluídos en el estudio todos los Astrocitomas Malignos de localización supratentorial, de diagnóstico inicial: tanto los de «novo» como las formas malignas «secundarias», como consecuencia de la progresiva transformación maligna a partir de Tumores Astrocíticos de Bajo Grado. En el caso de los tumores con heterogeneidad regional en el grado, la presencia de focos anaplásicos sirvió para su inclusión en el estudio. Fueron excluidos del mismo las recidivas tumorales en los pacientes con biopsia previa diagnosticada de Astrocitoma Maligno. Los cortes histológicos fueron revisados por al menos tres patólogos.

A continuación comprobamos que se disponía de material suficiente, incluido en bloques de parafina, de todos los casos seleccionados, para la posterior realización de las ténicas para KI-67 y GFAP.

La revisión de los datos clínicos, de los pacientes fallecidos sujetos a estudio, se obtuvo del archivo de historias clínicas del Servicio Central de Datos. En ellas se comprobó el seguimiento de los pacientes hasta su defunción, realizado por el Servicio de Neurocirugía; siendo necesario recoger la fecha del fallecimiento.

En los casos en que ésta no figuraba, se buscó en el archivo del Registro de Tumores, en la «CIE» 191 (Encéfalo), del Hospital (Institución 280402, integrada en la Conserjería de Salud de la Comunidad de Madrid). Y en aquellos casos en los que no había constancia de la situación de los pacientes, se contactó con los familiares a través del Servicio de Neurocirugía para verificar si seguían con vida o ya habían fallecido. Aquellos casos en los que no fué posible realizar seguimiento del paciente fueron desechados.

Respecto al material tumoral utilizado, sólamente ha sido estudiado y empleado el procedente de la primera intervención quirúrgica en la que se diagnosticó histológicamente el Astrocitoma

de grado III o IV; no siendo valorado en el presente trabajo el material procedente de reintervenciones postrecidiva tumoral, ni los pocos constatados de biopsia esterotáxica o de material de necropsia.

La intervención quirúrgica precisó criterios de operabilidad, y controles pre y postquirúrgicos hematológicos, analíticos y funcionales; excluyéndose del estudio los pacientes no intervenidos.

2. DATOS CLINICOS.

Utilizando como fuente de datos las historias clínicas de los pacientes, hemos recogido de ellas aquellos factores con valores variables que, a la vista de la base de conocimientos actuales, pudieran guardar relación o influir en el tiempo de supervivencia de los mismos.

Hemos definido la «Supervivencia» empleando el criterio de Salcman,[284] a partir del «diagnóstico tisular», que es el más generalizado; es decir, como el número de meses transcurridos desde la fecha de la primera intervención de la tumorectomía, con diagnóstico de Astrocitoma Maligno, hasta la fecha de defunción. La fracción de mes se ha redondeado: añadiéndose uno al exceso de quince días, o despreciándose los días inferiores a quince. Sólo se han incluido en el estudio a todos aquellos pacientes que han sobrevivido al menos cuatro semanas tras la intervención.

Todos los pacientes han sido tratados según protocolo terapéutico estandarizado, consistente en la asociación de cirugía (resección tumoral) y radioterapia postquirúrgica. En edades jóvenes, y en general por debajo de los 40 años, se les añadió tratamiento quimioterápico cíclico con BCNU. En las recidivas, los pacientes recibieron tratamiento paliativo; excepto en el grupo de edad jóven, al que se le aplicó tratamiento similar al efectuado para el tumor inicial.

La radioterapia fué iniciada a las tres o cuatro semanas de la intervención, con megavoltaje a dosis fraccionadas de 5x200 cGy., hasta alcanzar los 60 Gy. en 6-7 semanas. Asociándose dexametasona para disminuir el edema cerebral producido por la irradiación.

Hemos incluido en el presente estudio: la supervivencia, y todas aquellas variables de ámbito clínico que pudieran asociarse a ella, como la edad, el sexo, la localización y extensión tumoral, y el estado prequirúrgico del paciente:

A) EL ESTADO DEL PACIENTE: Se ha considerado el estado prequirúrgico del paciente, a través de la aplicación de la escala de Karnofsky,[171] mediante una adaptación de la misma; en la que hemos establecido tres valores:

- 1. Pacientes con rango de 40-50: que requieren considerable asistencia, e incluso manifiestan una invalidez, aunque de carácter no severo.
- 2. Pacientes con rango de 60-70: que precisan ayuda, cuidados y asistencia; sin poder llevar a cabo una actividad normal.
- 3. Pacientes con rango de 80-90: que presentan sintomatología, pero con un buen estado que les permite realizar una actividad normal.

B) LA EDAD: Se recoge la edad de cada caso, expresada en años completos, como variable numérica de la tabla de frecuencias, sin que ninguno de los valores sea excluido del estudio.

C) EL SEXO: Se han considerado sus dos valores: hombre y mujer.

D) LOCALIZACION Y EXTENSION TUMORAL: Son dos variables cuyos valores se han tomado de los datos reflejados en las historias, o revisando las imágenes neuroradiológicas archivadas de cada paciente. Las imágenes corresponden a las otenidas con técnica de tomografía cerbral (TC), mediante cortes sagitales y axiales, en secuencias ponderadas en T1, con contraste paramagnético; o mediante técnica de resonancia magnética craneal (RM), con cortes cada 10 mm., de 5 mm. de espesor de corte (Fig. 1).

En relación a la Extensión, hemos utilizado el sistema TNM de la UICC,[341] (Graf. 10), con los siguientes valores:

- 1: El tumor mide 5 cm. o menos y afecta a un sólo hemisferio.
- 2: El tumor mide más de 5 cm. y se encuentra limitado en un sólo hemisferio.
- 3: Invade o protuye dentro del sistema ventricular.
- 4: Infiltra la línea media; invade el hemisferio contralateral; o alcanza la región infratentorial.

En relación a la Localización, se recoge el hemisferio afectado, mediante tres valores:

- 1. Afectación del hemisferio izquierdo.
- 2. Afectación del hemisferio derecho.
- 3. Afectación bilateral.

También hacemos referencia al lóbulo o a los lóbulos afectados, de manera nominal en cada caso; así como a la presencia de formas multicéntricas.

3. DATOS ANATOMOPATOLOGICOS.

3.1. TECNICAS Y PROCESADO DE LAS MUESTRAS:

Las técnicas en el procesado de los tejidos han sido las convencionales de cualquier laboratorio de Anatomía Patológica. Con objeto de prevenir la aparición de falsos negativos en la inmurreactividad, debidos, como señala De Armond,[80] a subóptima fijación, ésta se realiza habitualmente de manera inmediata en el quirófano; y también por ello, hemos desechado, para el presente estudio, el material procedente de autopsia.

La fijación de las piezas de tumorectomía se lleva a cabo mediante el empleo de formol (formalina o solución acuosa de aldehido fórmico) al 10%, que ya fué recomendado por Cajal[43] para el estudio de las piezas patológicas cerebrales; y que hoy en día es ampliamente difundido en la realización de las técnicas que nos ocupan, debido a la resistencia al formol y a la parafina que ofrecen las inmunorreacciones tanto de la GFAP,[54] como de la Ki-67/MIB1.[47,219]

Las piezas fijadas y etiquetadas son remitidas al Servicio de Anatomía Patológica, donde son talladas y procesadas hasta su inclusión total en bloques de parafina. De los bloques, se realizan cortes seriados de 5 micras, con el microtomo; y dichos cortes histológicos, tras su desparafinación en xilol, se tiñen con hematoxilina y eosina de manera convencional; procediéndose posteriormente al montaje y etiquetado de las laminillas histológicas ya teñidas.

Para la realización de técnicas inmunohistoquímicas, objeto del presente trabajo, se han efectuado cortes seriados de 5 micras, de los bloques de parafina conservados; colocándose los cortes histológicos obtenidos, sobre portaobjetos tratados con lisina. Estos se introducen en estufa a 37° durante 24 horas, para lograr una buena adherencia del tejido al portaobjetos, y a continuación se realizan las técnicas para GFAP y para Ki-67.

El procedimiento de ambas técnicas es muy similar, siendo realizado en ambos casos por el método de la streptavidina/peroxidasa (Tabla 17), que actualmente es un procedimiento estandarizado para cualquier tipo de anticuerpo. Para la realización de la técnica se ha empleado el «Kit» de los laboratorios Dako («Dako StreptABComplex/HRP Duet mouse/rabit Kit. Dako Co., Santa Barbara, Calif., USA»).

TABLA 8: TECNICA DE INMUNOPEROXIDASA

1. CORTES HISTOLOGICOS DE 5 MICRAS EN PARAFINA.
2. SECAR EN ESTUFA A 37° DURANTE 12-24 HORAS.
3. DESPARAFINAR LOS CORTES:
   - 3 X 10' EN XILOL.
4. HIDRATAR LOS CORTES EN ALCOHOLES DECRECIENTES HASTA EL AGUA:
   - 2 X 5' EN ALCOHOL DE 99%.
   - 2 X 10' EN ALCOHOL DE 96%.
   - 2 X 3' EN AGUA.
5. DIGESTION EN PEPSINA: DURANTE 10'.
6. ACCION DEL MICROONDAS, EN RECIPIENTE CON BUFFER CITRATO:
   - 3 X (5', 2,5', Y 2,5').
7. LAVADO EN BUFFER PBS.
8. HIDROGENO-PEROXIDASA (ENDOBLOKER): DURANTE 5'.
9. LAVADO EN BUFFER PBS.
10. ACONDICIONADOR DE TEJIDOS: DURANTE 5'.
11. ANTICUERPO PRIMARIO A 37° EN CAMARA HUMEDA DURANTE 1 HORA.
12. LAVADO EN BUFFER PBS: 2 X 5'.
13. ANTICUERPO SECUNDARIO (BIOTINA) A 37° DURANTE 15'.
14. LAVADO EN BUFFER PBS: 2 X 5'.
15. STREPTAVIDINA-PEROXIDASA A 37° DURANTE 15'.
16. LAVADO EN BUFFER PBS.
17. CROMOGENO: 5-7' A 37°.
18. LAVADO EN AGUA DURANTE 2'.
19. CONTRASTAR CON HEMATOXILINA DE MAYER UNOS SEGUNDOS.
20. LAVAR EN AGUA Y MONTAR EN MEDIO ACUOSO.

NOTA: La técnica de inmunoperoxidasa ha experimentado numerosas variaciones a lo largo de estos años; por ejemplo, ya no son necesarias la digestión enzimática con pepsina, o la utilización de acondicionador de tejidos; y los tiempos de acción de los anticuerpos sobre el tejido se han reducido a prácticamente la mitad. Esto se ha debido a la mejora en los anticuerpos y Kits de trabajo, por parte de los laboratorios proveedores, encaminados a facilitar y hacer menos laboriosas dichas técnicas; si bien, para cada determinado anticuerpo los marcajes son reproducibles y similares, al menos en nuestra experiencia.

El anticuerpo anti Ki-67 (anticuerpo primario) utilizado es el MIB-1 mAb (monoclonal mouse anti-human Ki-67 antigen), de los laboratorios Zymed (San Francisco, USA); en envase prediluido, isotipo IgG1. El anticuerpo (primario) empleado para marcar la GFAP es el mouse monoclonal anticuerpo anti-GFAP; en envase prediluido, isotipo IgG1; también de los laboratorios Zymed.

Las secciones histológicas se extraen de la estufa y se desparafinan en xilol. Se rehidratan, pasándolas por sucesivos alcoholes (etanol en grados decrecientes), hasta el agua. A continuación se bloquea la acción de la peroxidasa endógena tisular, mediante el paso por peróxido de hidrógeno (H2O2) al 3% en metanol, durante 10 minutos; y se realizan varios lavados en pases por agua destilada.

Tras el procesado de los tejidos es común que se produzca un enmascaramiento del antígeno Ki-67, para cuya recuperación es preciso aplicar el método señalado por diversos autores,[48,219,312] consistente en someter el tejido a la acción de microondas; si bien, el mecanismo por el cual el antígeno se recupera es desconocido.[312] Para ello, se sumergen los cortes histológicos en 500 ml de buffer citrato 0,01M a pH 6.0, en un recipiente (de plástico) resistente a la acción del microondas.

Una vez en el horno microondas (700 watt.), se someten a la máxima potencia del aparato, en tres periodos de cinco, tres y tres minutos, con intervalos de descanso de uno a dos minutos (hasta que cesa la ebullición), añadiéndose en el último intervalo agua destilada a la solución, para cubrir totalmente las preparaciones. Finalmente se deja enfriar el recipiente con las preparaciones, durante 20 minutos a temperatura ambiente.

Los cortes histológicos para técnica de GFAP, no precisan de la acción del buffer citrato en microondas; sometiéndose, en su lugar, a la digestión enzimática de la pepsina, durante diez minutos.

Después, en ambas técnicas por separado, se sumergen las preparaciones en buffer PBS (fosfato buffer salino a pH 7.4; «para inmunoanálisis», de los laboratorios Biomeda), durante cinco minutos. Se secan cuidadosamente los márgenes del portaobjetos en torno al tejido; el cual se rodea con rotulación hidrófuga.

Luego se tratan con «acondicionador de tejidos» (tissue conditioner, de Biomeda), durante cinco minutos a temperatura ambiente. Y transcurridos esos minutos, se reemplaza el líquido acondicionador por el anticuerpo primario, del que se colocan varias gotas sobre el tejido, hasta cubrirlo; quedando delimitado por el margen hidrófugo. Se incuba a 37°, durante 60 minutos, en cámara húmeda. Transcurrido ese tiempo, se lava con buffer PBS, que recubrirá el tejido durante cinco minutos a temperatura ambiente.

Para la visualización, se realiza amplificación de la señal; empleándose el sistema incluido

en el «Kit» de Dako: biotina-IgG («link antibody» o anticuerpo secundario), que se coloca recubriendo el tejido, y se incuba 15 minutos a 37° en cámara húmeda. Después se lava cinco minutos con buffer PBS a temperatura ambiente. Se recubre el tejido con streptavidina-peroxidasa y se incuba otros 15 minutos a 37° en cámara húmeda. Transcurrido ese tiempo se realiza un nuevo lavado de cinco minutos con buffer PBS.

Y finalmente, se coloca el cromógeno (o «revelador» de la señal), incubándose la solución cromógeno-sustrato durante 7 minutos en la cámara húmeda de incubación, a 37°. Como cromógeno hemos utilizado la AEC (Peroxidase Chromogen Kit, de Biomeda). Tras ello, se lavan las preparaciones en agua destilada y se contrastan con hematoxilina de Mayer, sólamente durante 2 ó 3 segundos. Se pasa por agua y se monta la preparación, directamente con «crystal-mount» (laboratorios Biomeda) en medio acuoso, dejando que se solidifique a lo largo de varias horas en la estufa a 37°.

La cámara húmeda con regulador de temperatura utilizada tiene capacidad para soportar veinte preparaciones, por lo que hemos realizado series de dieciocho preparaciones, en cada técnica, mas los controles positivo y negativo de cada serie. En los casos en que, por el tamaño de la tumoración, se efectuaron varios bloques, hemos realizados las técnicas (de GFAP y de Ki-67) en cada uno de los cortes correspondientes a cada bloque, en todos los casos.

Como control negativo en ambas técnicas, se realizó la omisión del anticuerpo primario en uno de los cortes. Como control positivo para GFAP, se empleó un corte de tejido con gliosis reactiva, en el que previamente se había comprobado su positividad; y como control positivo para Ki-67 se empleó un corte de adenoma velloso intestinal, en el que previamente se había comprobado su positividad nuclear.

3.2. CUANTIFICACION DEL INDICE PROLIFERATIVO (Ki-67 PI):

La identificación del marcaje de células positivas para Ki-67, y su posterior cuantificación son fácilmente reproducibles, al ser una positividad nuclear, observándose células con núcleo «rojo-marrón» (positivo) dado por el cromógeno en las células que expresan antígeno Ki-67, tras la reacción antígeno/anticuerpo; y otras células con núcleo «azul» (negativo) debido al contraste con hematoxilina.

Para objetivar la expresión de Ki-67 y establecer un «indice proliferativo (Ki-67IP)», nos hemos servido de un programa morfocitométrico de análisis de imagen: el «MIP-4 avanced interactivo» de Micron para Windows. Dadas las características de este programa informático, hemos establecido el Ki-67IP con similar metodología que Sallinen[285] y Kirkegaard;[180] es decir, referido al «Porcentaje de Area Nuclear Positiva (PPNA)» respecto al total del área nuclear de

astrocitos neoplásicos. De manera que la medida de la PPNA, como valor del índice proliferativo celular, está en función tanto del número como del tamaño de los núcleos de las células proliferantes malignas.

Para ello, hemos realizado un macrocomando, con objeto de sistematizar los pasos a seguir en el análisis de las imágenes, mediante la aplicación del programa morfocitométrico (Fig. 12):

1.- Captura de la imagen a analizar. En primer lugar, se selecciona con el microscopio el campo histológico que a la simple observación microscópica presente una mayor actividad proliferativa (mayor marcaje de Ki-67); y con el objetivo de 40 aumentos nos situamos en el centro del foco seleccionado. La imagen observada por el ocular es captada por una cámara de video acoplada en el microscopio y conectada al ordenador; de manera que primero se visualiza en el monitor y luego pasa a ser capturada por el programa citométrico.

2.- Calibración. Las medidas en pixel son traducidas a micras, en relación con el aumento al que se está trabajando; que como ya ha sido referido anteriormente se ha realizado con el objetivo de 40 aumentos (400x), pues es el de uso generalizado.[180,208,229,262,285,360]

3.- Selección del área tumoral. Se marca manualmente (con el ratón) el área del campo histológico en el que realizaremos las mediciones. Será la región tumoral capturada menos las áreas correspondientes a necrosis y a proliferación vascular, que excluiremos.

4.- Identificación topográfica. El programa identifica el área marcada y la selecciona.

5.- Segmentación por color y densidad nuclear. Se marcan (con el ratón) los núcleos teñidos positivos. El programa realiza una segmentación de colores, y asigna un color a cada núcleo seleccionado (Fig. 12A); no identificando los núcleos azules (negativos).

6.- Identificación topográfica de los núcleos seleccionados. Identifica el área nuclear total seleccionada, apareciendo de color blanco (Fig. 12B).

7.- Medida automática del área nuclear total, que se acaba de identificar.

8.- Estadística. Nos permite visualizar los valores calculados, proporcionándonos la medida del área total nuclear de céluas positivas, expresada en micras cuadrado. El valor del área total nuclear positiva es guardado en un archivo del programa, con extensión «mcr».

La operación descrita se repite después para los núcleos negativos (Fig. 12C,12D). Y a continuación analizamos de cada caso otros cuatro campos consecutivos desde el primero seleccionado, mediante desplazamiento a través de los ejes horizontal y vertical. Así hasta totalizar los

81 casos de la Serie. De manera que habremos analizado, de cada caso, aproximadamente 0,9 mm^2 de tumor, de la zona de mayor actividad proliferativa; o, en otros términos, en torno a 1.000 células neoplásicas, correspondientes a los 5 (400x) campos consecutivos seleccionados.

El índice de proliferación de Ki-67 (Ki-67IP), para cada caso, será el resultado de la cuantificación de los cinco campos analizados; tomándose como valor de Ki-67IP el porcentaje del área nuclear positiva (PPNA) respecto al total del área nuclear neoplásica.

La reproductividad del método la hemos efectuado a partir de la idea de McCormick,[220] de repetir el contaje; pero a diferencia de este autor, no lo hemos efectuado en la totalidad de las preparaciones, sino sólamente en un 25% de las mismas, tomadas al azar.

3.3. CUANTIFICACION DE LA DIFERENCIACION (EXPRESION DE GFAP):

La GFAP es una proteina citoplasmática, que nos dibuja el soma y las prolongaciones, de aquellas células que conservan diferenciación astrocítica. De ello resulta que, en regiones de elevada celularidad, aparezca un marcaje difícilmente cuantificable por citometría de imagen (Fig. 6B). Para su cuantificación, hemos establecido tres valores, correspondientes a los patrones de expresión tumoral de GFAP observados:

1.- (+): Escasa, aunque identificable, positividad en células tumorales aisladas (Fig. 10). La poca expresividad hace referencia tanto al número de células positivas como a su bajo contenido citoplasmático. Resultando una imagen tumoral general homogénea con escasa reactividad. No se valoran como células tumorales los astrocitos de caracter reactivo peritumorales o de disposición perivascular, que manifiestan una fuerte expresión de GFAP en sus prolongaciones citoplasmáticas bien conservadas (Fig. 5).

3.- (+++): El tumor muestra un evidente marcaje positivo con GFAP, en la gran mayoría de su celularidad (Fig. 8). Resultando una imagen tumoral general homogénea, con marcaje positivo de la masa tumoral; en la resaltan las zonas negativas correspondientes a áreas de angiogénesis y de necrosis, cuando se presentan estos fenómenos.

2.- (++): La tumoración muestra heterogenidad en la expresión de GFAP (Fig. 9), con zonas de clara e intensa positividad (como en el patrón +++), y otras regiones con positividad limitada a algunas células salpicadas (como en el patrón +). Estas regiones se entremezclan en un mismo tumor, resultando diversidad zonal en la inmunoreacción.

3.4. VARIABLES HISTOLOGICAS INCLUIDAS EN EL ESTUDIO:

El grado histológico ha sido valorado inicialmente con arreglo a los criterios de la OMS:[182] considerando Astrocitoma Anaplásico a la proliferación de astrocitos atípicos con presencia de mitosis evidentes; y Glioblastoma a la neoplasia astrocítica que añade además fenómenos de necrosis y/o de proliferación microvascular (MVP). La valoración de las variables incluidas en el estudio se ha realizado de manera independiente del grado.

Junto a los hechos histológicos constantes observados en los Astrocitomas Malignos, como la presencia de elevada densidad celular, atipia nuclear y mitosis evidentes, pueden aparecer otros de forma inconstante, que hemos incluido en el estudio, por haber sido asociados a un alto grado de malignidad, como la aparición de necrosis y angiogénesis-MVP,[15,41,77,182] y la presencia de celularidad pequeña isomorfa.[99,188]

- La necrosis tumoral (Fig. 4): De igual manera a como es referida en los Sistemas de la OMS[182] y de Daumas-Dupor,[77] hemos considerado únicamente su ausencia (valor 1) o su presencia (valor 2); sin entrar en valoraciones de su extensión, o su asociación con empalizada periférica de células tumorales.

- La hiperplasia endotelial vascular: De igual manera a la recogida en el Sistema Daumas-Duport,[77] hemos valorado su ausencia (valor 1) o su presencia (valor 2); identificando como tal las lesiones de proliferación microvascular endotelial (MVP) (Fig. 3). Se considera como ausencia (valor 1) la angiogénesis de vasos capilares tapizados por una sóla capa de células endoteliales y la hiperplasia adventicial (Fig. 5A).

- La población de células pequeñas isomorfas: que en ocasiones aparece en el seno de la tumoración, formando láminas celulares de mayor o menor tamaño (Fig. 11). En esta variable histológica, de igual manera que en las dos precedentes, sólamente se ha considerado su presencia (valor 2) o su ausencia (valor 1), y no su proporción en el seno de la tumoración.

4. ANALISIS ESTADISTICO:

El análisis estadístico se ha realizado valiéndonos del programa informático SPSS para Windows software (SPSS Inc., Chicago,IL).

En primer lugar, realizamos la descripción de cada una de las variables incuidas en el estudio. Para comprobar la normalidad de los datos en cada variable fueron utilizadas las pruebas K-S

de normalidad.[165]

La distribución de la supervivencia en cada una de las variables fué estimada por el método de Kaplan y Meier;[167] y sus diferencias fueron probadas mediante el test de significación estadística de Log Rank[253] (modificado de Mantel[212]).

El grado de asociación de la supervivencia con las diversas variables, que ya habían demostrado significación estadística en el análisis univariante, lo hemos realizado mediante análisis multivariante siguiendo el modelo de regresión de Cox.[70]

Para comprobar la existencia de significación estadística en las diferencias observadas entre variables ordenables o contínuas que no seguían distribuciones normales, se utilizó el test de la U de Mann-Whitney;[280,321] y la correlación entre ellas fué probada mediante el coeficiente ρ (rho) de Spearman.[321] Si ambas variables eran cualitativas, se realizó el test de chi-cuadrado en su aspecto de independencia.[165]

Para cuantificar la reproductividad de datos categóricos, y valorar el grado de concordancia entre los diferentes Sistemas de Clasificación, hemos aplicado el coeficiente de concordancia de Kappa.[1,106] La capacidad discriminante de los diferentes Sistemas de Clasificación ha sido valorada mediante análisis de la función canónica discriminante; y la comparación entre ellas se ha efectuado mediante la prueba de la U estadística Lambda de Wilks.[165]

Nota: *Aunque los resultados deberían ser referidos en tantos por uno, puesto que estamos realizando el estudio a 81 pacientes, los referiremos en tantos por cien (forma de uso más generalizada), con objeto de facilitar su comparación con otros estudios.*

RESULTADOS

1. DESCRIPCION DE LA POBLACION ESTUDIADA:

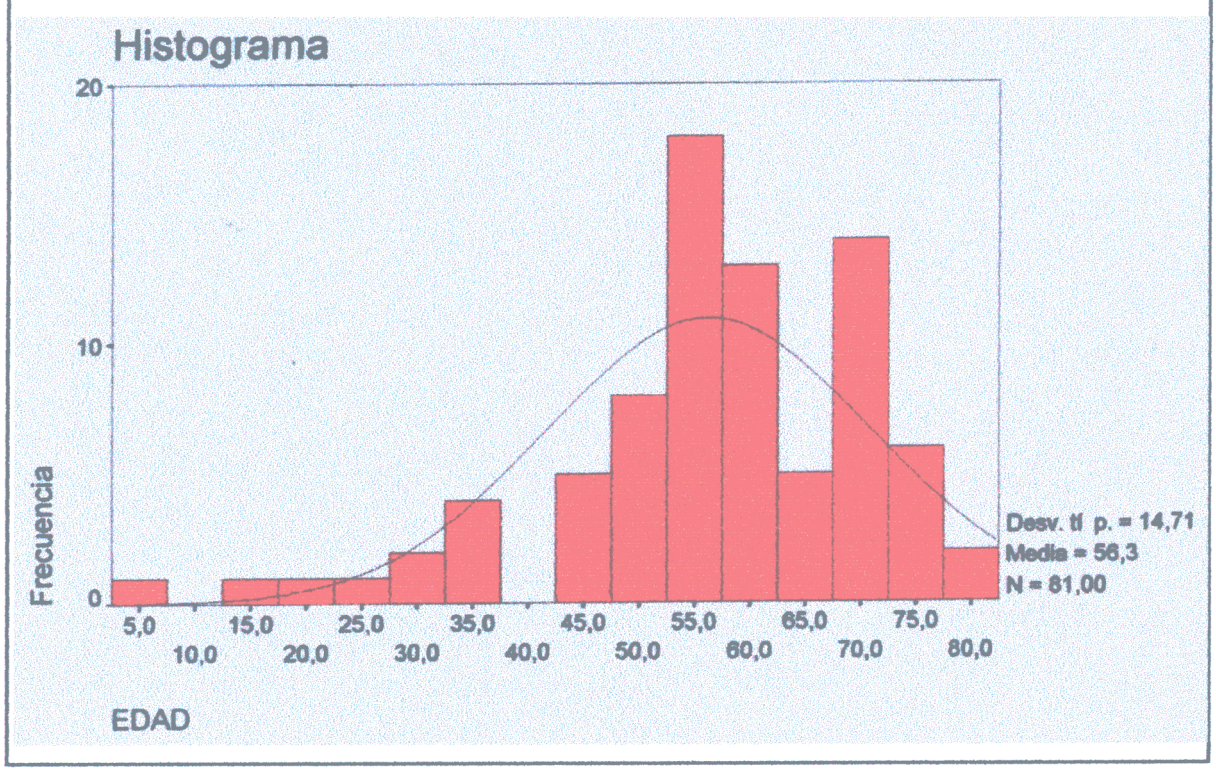
La Serie comprende 81 pacientes, con tumores de localización supratentorial hemisférica, diagnosticados y confirmados histológicamente como Astrocitomas Malignos, tras una revisión de un total de 163 Tumores Astrocíticos, que tuvieron lugar a lo largo de 12 años.

El número de pacientes con Tumores Astrocíticos Malignos observados fué 101, constituyendo por tanto el 62% del total de pacientes con Tumores Astrocíticos, confirmados histológicamente. Fueron rechazados del estudio, por no cumplir los criterios inclusión, 20 casos: 14 de ellos por falta de seguimiento; y los otros 6 casos por material no válido para estudio. Ningún paciente falleció en el periodo postoperatorio inmediato.

Del total de los 81 tumores, 63 (77.8%) correspondieron al grado IV y 18 (22,2%) al grado III, según el Sistema de la OMS. En la Tabla de Frecuencias (Anexo 1) se muestran las variables estudiadas; así como los valores obtenidos de cada variable para cada uno de los 81 registros.

La edad media de los pacientes fué de 56 años; media que se mantiene tanto en hombres como en mujeres. Muestra un rango de 76, comprendido entre un valor mínimo de 5 años y otro máximo de 81 años. La mediana de edad fué también 56 años; no observándose una distribución normal por grupos de edad (Graf. 11).

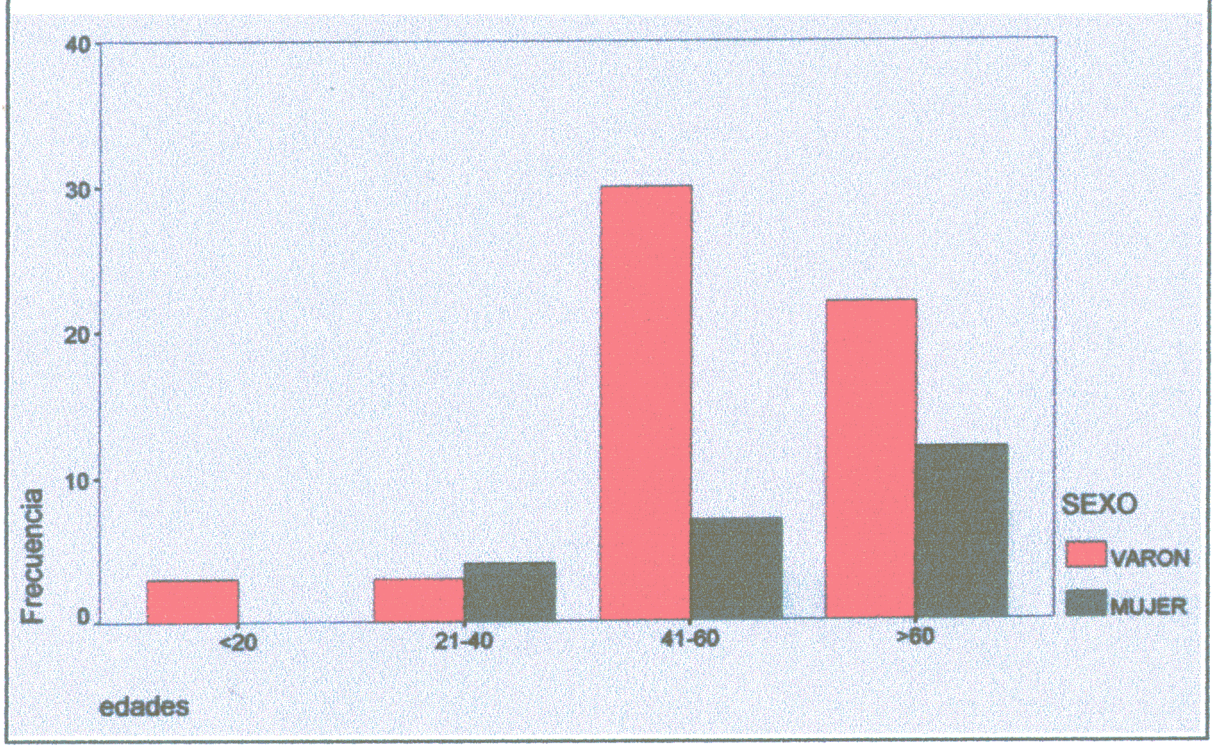
Gráfico 11
HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS DE LA EDAD



En ella se muestra una mayor frecuencia de presentación en la década comprendida entre los 50 y los 60 años; y un descenso llamativo por debajo de los 40 años, con tan sólo 10 casos; aunque el número total de casos registrados por encima y por debajo de la media fué similar, con 40 y 38 casos respectivamente, además de tres pacientes con 56 años. En nuestra Serie, ningún caso se produjo en pacientes con edades comprendidas entre los 37 y los 42 años.

Han sido registrados 58 (72%) hombres y 23 (28%) mujeres; siendo por lo tanto la relación hombre/mujer aproximadamente de 2,5:1; relación que se mantiene, en líneas generales, en los grupos de pacientes mayores y menores de 40 años; si bien, podemos comprobar que mientras en las mujeres se produce un aumento progresivo de su frecuencia por intervalos de edad, en los hombres alcanza su máxima frecuencia en el intervalo de 41-60 años, para luego decrecer ligeramente (Graf. 12).

Gráfico 12
HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS DE LA EDAD POR SEXO



El estado prequirúrgico, en relación a la Escala de Karnofsky, comprende 23 (35%) pacientes dentro de un rango de 80-90; 29 (44,6%) pacientes en un rango de 60-70; y otros 13 (20%) mostraban un rango de 40-50. Ningún paciente se encontró comprendido en un rango inferior a 40; ni fueron observados pacientes asintomáticos (Karnofsky 100) en el momento de la intervención. En 16 (19,7%) casos no se pudo verificar dicho rango.

En cuanto a la localización de los Astrocitomas Malignos, hemos encontrado afectación en cualquiera de los lóbulos cerebrales (Tabla 9). En 43 (53%) casos se afectó un sólo lóbulo; y en 36 (44,5%) casos el tumor alcanzó a varios lóbulos; no se ha podido verificar el registro en 2 (2,5%) casos. El lóbulo que se ha afectado más frecuentemente ha sido el temporal.

TABLA 9: LOCALIZACION DE LOS ASTROCITOMAS MALIGNOS

LOBULO lobulo

Value Label	Value	Frequency	Percent	Valid Percent	Cum Percent
	.	2	2,5	2,5	2,5
F	1	10	12,3	12,3	14,8
P	2	9	11,1	11,1	25,9
T	3	15	18,5	18,5	44,4
O	4	9	11,1	11,1	55,6
F-P	5	12	14,8	14,8	70,4
P-T	6	11	13,6	13,6	84,0
P-O	7	4	4,9	4,9	88,9
F-P-T	8	4	4,9	4,9	93,8
P-T-O	9	5	6,2	6,2	100,0
	Total	81	100,0	100,0	

Por hemisferios, el izquierdo se ha afectado más frecuentemente, con 42 (52%) casos por 32 (39,5%) casos de afectación derecha; aunque dicha diferencia carece de significación estadística ($p>0,05$; Tabla 10). En 5 (6%) casos se encontró afectación bilateral; y en 2 (2,5%) casos no se pudo verificar.

TABLA 10: LOCALIZACION HEMISFERICA. PRUEBA DEL CHI-CUADRADO

- - - - - Chi-Square Test

HEMISF HEMISF

	Category	Cases Observed	Expected	Residual
d	1	32	37,00	-5,00
i	2	42	37,00	5,00
	Total	74		

Chi-Square	D.F.	Significance
1,3514	1	,2450

En la extensión tumoral observada (Tabla 11) encontramos un mayor número de tumores en estadio T-1, con 35 (43,2%) casos; 22 (27,2%) casos se encontraron en estadio T-2; 9 (11,1%) casos se encontraron en estadio T-3; y 13 (16%) casos se encontraron en estadio T-4, alcanzando estructuras profundas cerebrales; con bilateralización en 5 casos. Se han observado 6 (7,5%) tumores multicéntricos (Anexo 1), de los cuales 3 se encontraban en estadio T-4, con afectación

bilateral; 1 en estadio T-3; y los otros 2, en estadio T-1, afectandose el hemisferio izquierdo en estos casos.

TABLA 11: EXTENSION TUMORAL

EXT ext

Value Label	Value	Frequency	Percent	Valid Percent	Cum Percent
	.	2	2,5	2,5	2,5
T-1	1	35	43,2	43,2	45,7
T-2	2	22	27,2	27,2	72,8
T-3	3	9	11,1	11,1	84,0
T-4	4	13	16,0	16,0	100,0
	Total	81	100,0	100,0	

El estudio de los cortes histológicos revela la presencia de necrosis en 59 (72,8%) tumores, no siendo identificada en los otros 22 (27,2%) casos. La necrosis frecuentemente apareció delimitada por una empalizada periférica de células tumorales (Fig. 4).

En 41 (50,6%) casos se identificaron estructuras de proliferación microvascular («MVP») (Fig. 3), y en los restantes 40 (49,4%) tumores no se identificaron dichas formaciones vasculares; no entrando en consideración la angiogénesis de vasos capilares simples (Fig. 5A). Sólamente en 4 de los 41 tumores en los que se observó «MVP» no se identificó necrosis tumoral acompañante; es decir, que en el 6,3% de los tumores de grado IV de la OMS no se observó necrosis. Y de los 59 casos que presentaban necrosis tumoral 37 mostraron además «MVP» en los cortes estudiados (Fig. 3B).

Referente al estudio histológico de la población tumoral, hemos podido comprobar la presencia de células pequeñas isomorfas próximas entre sí, en grupos celulares más o menos amplios, en 18 (22%) casos. En todos ellos se observó diferenciación astrocítica acompañante (Fig. 11).

Las técnicas para marcadores tumorales mostraron positividad en todos los casos. El Ki-67IP (Fig. 7) mostró un rango de positividad de 44, con valores máximo y mínimo del 47% y 3% del área positiva nuclear de la celularidad tumoral, respectivamente; con una media de 18% del área nuclear positiva, y una mediana del 16%. La positividad para GFAP, según los patrones de expresión definidos, mostró una frecuencia de 19 (23,5%) casos con patrón «+» (Fig. 10); 34 (42%) casos con patrón «++» (Fig. 9); y 28 (34,6%) casos con patrón «+++» (Fig. 8).

La Supervivencia media de nuestros pacientes fué de 9,3 meses; con un valor mediano de 8 meses; y valores para el percentil 25 de 5 meses y para el percentil 75 de 11 meses; no observándose una distribución normal de la Supervivencia en la Serie de pacientes (Tabla 12; Graf. 13).

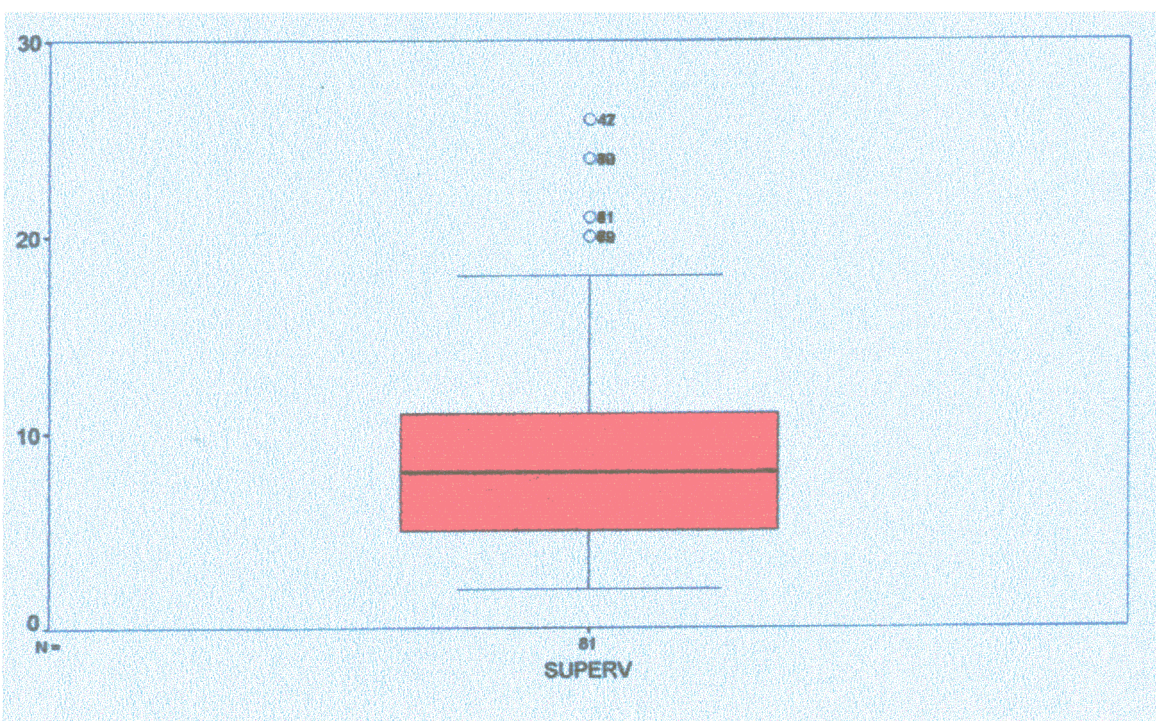
TABLA 12: SUPERVIVENCIA. PRUEBA DE NORMALIDAD

```
- - - - - Kolmogorov - Smirnov Goodness of Fit Test

SUPERV

Test distribution  -  Normal                    Mean:  9,37
                                  Standard Deviation:  5,67

        Cases:  81

        Most extreme differences
  Absolute        Positive        Negative        K-S Z       2-Tailed P
   ,17329          ,17329         -,09686         1,5596          ,0154
```

Gráfico 13

DISTRIBUCION DE LA SUPERVIVENCIA: PRUEBA DE NORMALIDAD Y GRAFICO

```
                          Statistic        df        Significance

K-S (Lilliefors)            ,1733          81           ,0000

Hi-Res Chart  # 3:Gráfico de cajas de superv por vivo
```



Los valores máximo y mínimo fueron respectivamente de 26 y 2 meses, con un rango de 24. El 23% de los pacientes superaron el primer año de vida; el 5% los dos años; y nadie alcanzó el tercer año de supervivencia desde la intervención quirúrgica (Tabla 13).

TABLA 13: DISTRIBUCION DE LA SUPERVIVENCIA

TABLA DE FRECUENCIAS

SUPERV

Value Label	Value	Frequency	Percent	Valid Percent	Cum Percent
	2	4	4,9	4,9	4,9
	3	5	6,2	6,2	11,1
	4	6	7,4	7,4	18,5
	5	6	7,4	7,4	25,9
	6	6	7,4	7,4	33,3
	7	8	9,9	9,9	43,2
	8	7	8,6	8,6	51,9
	9	5	6,2	6,2	58,0
	10	6	7,4	7,4	65,4
	11	9	11,1	11,1	76,5
	12	7	8,6	8,6	85,2
	14	1	1,2	1,2	86,4
	15	1	1,2	1,2	87,7
	17	1	1,2	1,2	88,9
	18	1	1,2	1,2	90,1
	20	2	2,5	2,5	92,6
	21	2	2,5	2,5	95,1
	24	2	2,5	2,5	97,5
	26	2	2,5	2,5	100,0
	Total	81	100,0	100,0	

2. FACTORES PRONOSTICOS:

Uno de nuestros objetivos ha sido determinar cuales son aquellas variables que tienen validez pronóstica. Es decir, verificar para qué variables, las diferencias en el tiempo de supervivencia observadas tienen significación estadística. Y si entre ellas se encuentran las variables basadas en la expresión de marcadores celulares, objeto de nuestro estudio.

En el estudio de la supervivencia, los resultados obtenidos muestran significación estadística para las variables necrosis, vascularización, edad, sexo, expresión de Ki-67, y expresión de GFAP; todas ellas con una $p<0,05$. Por el contrario, no hemos encontrado significación pronóstica para las variables extensión, localización lobular y hemisférica, estado prequirúrgico del paciente, y presencia de celularidad pequeña isomorfa (Tabla 14).

TABLA 14: FACTORES PRONOSTICOS

	EDAD	SEXO		NECROS		VASC		CEL PEQ		Ki67	GFAP			EXTENSION				LOB	STATUS		
VALOR		H	M	SI	NO	SI	NO	SI	NO		+	++	+++	T1	T2	T3	T4		A	B	C
Nº CASOS	81	58	23	59	22	41	40	18	63	81	19	34	28	35	22	9	13	81	23	29	13
MEDIA	9,3	10	7	8	12	8	11	9	10	9,3	6	9	13	8	11	10	10	9,3	10	9	7
MEDIANA	8	8	7	8	10	8	10	8	8	8	5	8	11	7	8	10	10	8	9	8	6
LOG RANK	0,006	0,044		0,012		0,008		0,325		0,000	0,0001			0,446				0,745	0,328		

Son variables con significación pronóstica todas aquellas cuya significación estadística es $p<0,05$.

Referente al estado clínico prequirúgico del paciente, aunque las diferencias de supervivencica observadas, entre los grupos establecidos, no han alcanzado significación estadística, sin embargo sí se observa una tendencia decreciente de la misma en proporción inversa al rango de Karnofsky (Tabla 14). Tampoco hemos encontrado significación estadística en la diferencia del tiempo de supervivencia observada entre pacientes con rango de Karnofsky superior e inferior/igual a 70 (p=0,3314; test Log Rank).

Tampoco hemos encontrado diferencias de supervivencia (p=0,49, test Log Rank) entre pacientes con tumores de localización profunda (T-4) y superficial (T-1, T-2 y T-3); habiendo sido observados 13 (16,4%) casos con afectación profunda, y los restantes 66 (83,5%) casos con afectación superficial. Dos casos no han sido registrados.

En el estudio comparativo entre tumores superficiales en estadio T1 y T2, encontramos un 61% de tumores con tamaño igual o menor a 5 cm. y un 39% con tamaño superior a 5 cm; no apreciándose diferencia de supervivencia entre ambos grupos (p=0,089; test Log Rank).

Sólamente hemos observado 6 (7,5%) pacientes con tumores multicéntricos, los cuales han presentado una supervivencia media de 7 meses y un valor mediano de 6 meses, en contraste con resto de la Serie a estudio, que ha mostrado unos valores medio y mediano de 10 y 8 meses respectivamente. A pesar de esa tendencia observada de menor supervivencia, dicha diferencia no alcanza significación estadística (p=0,29, test Log Rank).

Así mismo, también hemos valorado la diferencia de supervivencia entre pacientes con afectación tumoral limitada a un sólo lóbulo o alcanzando a varios lóbulos, sin encontrar entre ambas situaciones, diferencias estadísticas significativas (p=0,67, test Log Rank).

Las diversas variables con significación pronóstica guardan una relación directa o inversa con la supervivencia (Tabla 15): Así, encontramos la edad y la expresión de Ki-67 en relación inversa a la supervivencia: a más edad y mayor índice proliferativo menor supervivencia. Mientras que la expresión de GFAP se encuentra en relación directa, es decir: a mayor grado de diferenciación celular (GFAP+++) mayor supervivencia. La aparición de necrosis y la formación angiogénica se encuentran ambas correlacionadas inversamente con el tiempo de supervivencia; indicando su presencia un peor pronóstico.

TABLA 15: MATRIZ DE CORRELACION MULTIPLE

N of Cases = 81

Correlation, 1-tailed Sig:

	SUPERV	EDAD	GFAP	KI_67	NECROSIS	VASC
SUPERV	1,000 ,	-,168 ,067	,429 ,000	-,484 ,000	-,260 ,009	-,255 ,011
EDAD	-,168 ,067	1,000 ,	-,109 ,166	,202 ,035	,254 ,011	-,084 ,228
GFAP	,429 ,000	-,109 ,166	1,000 ,	-,536 ,000	-,241 ,015	,047 ,337
KI_67	-,484 ,000	,202 ,035	-,536 ,000	1,000 ,	,221 ,024	,090 ,211
NECROSIS	-,260 ,009	,254 ,011	-,241 ,015	,221 ,024	1,000 ,	,396 ,000
VASC	-,255 ,011	-,084 ,228	,047 ,337	,090 ,211	,396 ,000	1,000 ,

TABLA 16: CORRELACIONES PARA LA EDAD

EDAD	Ki67	GFAP	NECROS	VASC	STATUS	SEXO
COEF(*)	0,245	-0,110	0,165	-0,079	-0,149	0,047
SIGNIF.	0,027	0,300	0,139	0,479	0,236	0,674

(*) *Coeficiente de correlación de Spearman.*

La edad de los pacientes con este tipo de tumores, es un factor (variable) de ámbito clínico de gran interés pronóstico/terapeútico, que en nuestra Serie sólamente ha mostrado correlación (baja) con la actividad proliferativa tumoral ($p<0,05$; Tabla 16).

La edad carece de valor pronóstico por encima y debajo de su valor medio (56 años) ($p=0,22$, test Log Rank). Sin embargo sí hemos encontrado en el valor 40 años de edad (correspondiente al intervalo entre 37 y 44 años, en el que no se produjo ningún caso; Graf. 11), el valor que discrimina dos grupos de pacientes, cuya supervivencia muestra diferencias con significación estadística ($p=0,041$, test Log Rank).

Los dos grupos de pacientes definidos por el valor 40 años de edad, no muestran diferencias significativas en la actividad proliferativa tumoral (Ki-67IP), ni en su grado de diferenciación astrocítica (expresión de GFAP), (Tabla 17).

TABLA 17A: ACTIVIDAD PROLIFERATIVA (Ki-67 IP) EN PACIENTES CON EDAD SUPERIOR E INFERIOR A 40 AÑOS

```
- - - - - Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

    KI_67
 by EDAD40     edad40


    Mean Rank     Sum of Ranks  Cases
        31,40          314,0      10  EDAD40    =       1    <40
        42,35           3007      71  EDAD40    =       2    >40
                                  --
                                  81  Total

          U              W              Z  .    2-Tailed P
        259,0          314,0        -1,3793         ,1678
```

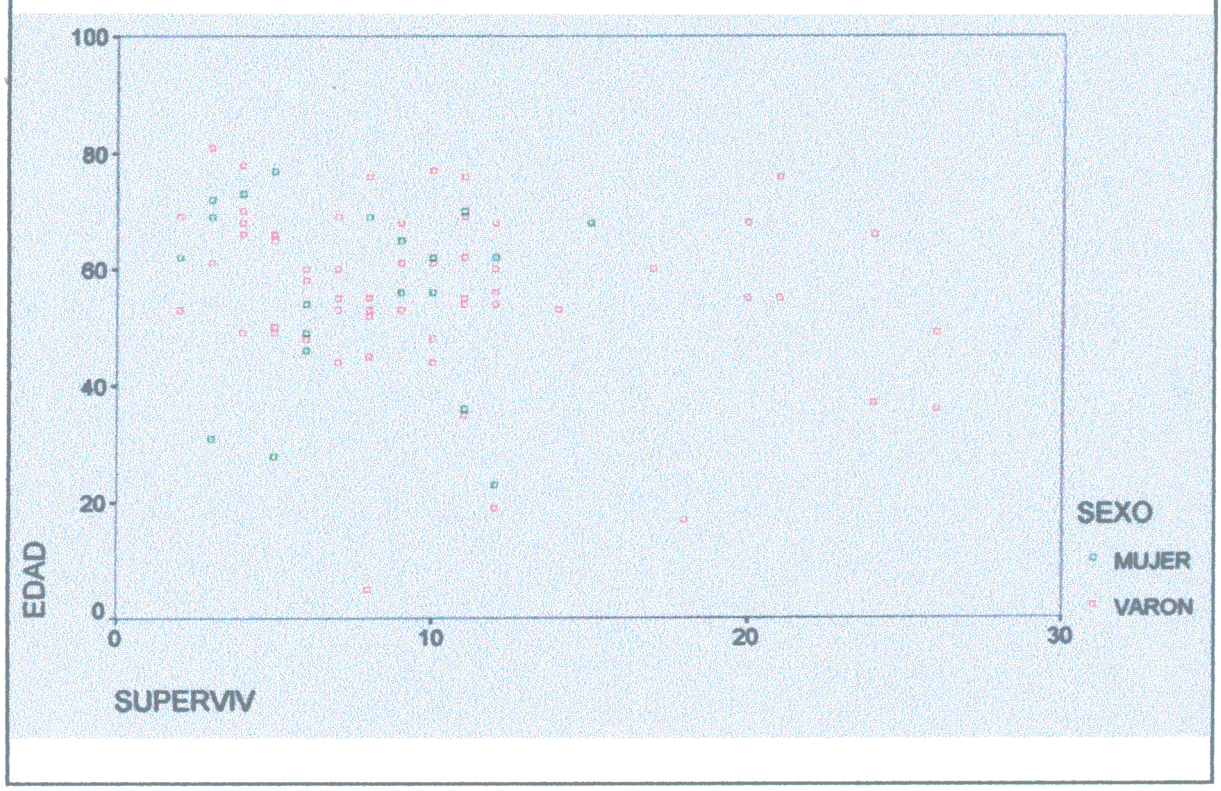
TABLA 17B: DIFERENCIACION TUMORAL (GFAP) EN PACIENTES CON EDAD SUPERIOR E INFERIOR A 40 AÑOS

```
- - - - - Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

    PGFA        pgfa
 by EDAD40      edad40


    Mean Rank     Sum of Ranks  Cases
        46,25          462,5      10  EDAD40    =       1    <40
        40,26           2859      71  EDAD40    =       2    >40
                                  --
                                  81  Total

          U              W              Z       2-Tailed P
        302,5         2858,5        -,8072          ,4196
```

La validez pronóstica de la edad (p=0,0068, Tabla 14), se conserva tanto en el grupo de hombres (p=0,0133), como en el de mujeres (p=0,0134). No hemos observado diferencias de supervivencia significativas entre hombres y mujeres, tanto por debajo de 40 años (p=0,0651), como en edades superiores a los 40 años (p=0,1244); aunque en el total de la Serie sí la hemos observado (p=0,0443, Tabla 14). Estos hechos quedan reflejados en el diagrama de dispersión de la variable sexo para la variable dependiente supervivencia por intervalos de edad (Graf. 14).

Gráfico 14

DISPERSION PACIENTES POR INTERVALOS DE EDAD Y TIEMPO DE SUPERVIVENCIA



La edad viene referida en años y la supervivencia en meses

La expresión de Ki-67 y de GFAP mantienen su valor pronóstico en cualquier intervalo de edad (p<0,05, Tabla 18). El Ki-67IP mantiene su capacidad pronóstica en cualquiera de los dos grupos por sexo, con valor similar (p<0,05, Tabla 19); mientras que la expresión de GFAP la mantiene en ambos grupos, por comparación de sus valores extremos (GFAP+ y GFAP+++) (p<0,05; Tabla 19).

La expresión de Ki-67 y de GFAP muestran entre sí correlación inversa con significación estadística (ρ=-0,55, p<0,05, Tabla 20): A mayor expresión de GFAP tumoral menor índice proliferativo (Ki-67IP).

TABLA 18A: ESTUDIO SUPERVIVENCIA PARA LA VARIABLE Ki-67 POR GRUPOS DE EDAD

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for KI_67
For EDAD2 = <41

	Statistic	df	Significance
Log Rank	18,74	8	,0163

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for KI_67
For EDAD2 = 41-60

	Statistic	df	Significance
Log Rank	57,63	22	,0000

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for KI_67
For EDAD2 = >60

	Statistic	df	Significance
Log Rank	66,13	21	,0000

TABLA 18B: ESTUDIO SUPERVIVENCIA PARA LA VARIABLE GFAP POR GRUPOS DE EDAD

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP
For EDAD2 = <41

	Statistic	df	Significance
Log Rank	9,27	2	,0097

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP
For EDAD2 = 41-60

	Statistic	df	Significance
Log Rank	8,13	2	,0171

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP
For EDAD2 = >60

	Statistic	df	Significance
Log Rank	8,66	2	,0132

TABLA 19A: ESTUDIO SUPERVIVENCIA PARA LA VARIABLE Ki-67 POR SEXO

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for KI_67
For SEXO = VARON

	Statistic	df	Significance
Log Rank	76,12	29	,0000

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for KI_67
For SEXO = MUJER

	Statistic	df	Significance
Log Rank	47,43	16	,0001

TABLA 19B: ESTUDIO SUPERVIVENCIA PARA LA VARIABLE GFAP POR SEXO

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP
For SEXO = VARON

	Statistic	df	Significance
Log Rank	10,43	1	,0012

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP
For SEXO = MUJER

	Statistic	df	Significance
Log Rank	5,62	1	,0178

TABLA 20: CORRELACION ENTRE LAS VARIABLES Ki-67 Y GFAP

```
- - -  S P E A R M A N   C O R R E L A T I O N   C O E F F I C I E N T S  - - -

KI_67          -,5507
            N(   81)
            Sig ,000

                GFAP

(Coefficient / (Cases) / 2-tailed Significance)

" , " is printed if a coefficient cannot be computed
```

Coeficiente de correlación de Spearman

Los tumores con necrosis presentan menor diferenciación astrocítica (expresión GFAP) que los tumores sin presencia de necrosis ($p<0,05$, Tabla 21A). Observándose además correlación inversa entre el grado de diferenciación (GFAP) y la presencia de necrosis ($\rho=-0,2460$, $p<0,05$, Tabla 21B). Sin embargo, la actividad proliferativa tumoral (Ki-67IP) observada en los grupos con y sin necrosis, muestra entre ambos una diferencia próxima a la significación estadística, pero sin llegar a alcanzarla (Tabla 22A); observándose una discreta correlación entre ambas variables, en torno a la significación estadística (Tabla 22B).

TABLA 21A: DIFERENCIACION TUMORAL (GFAP) EN TUMORES CON Y SIN NECROSIS

```
- - - - - Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

    GFAP       gfap
  by NECROSIS  necrosis

    Mean Rank     Sum of Ranks  Cases
        37,72           2226     59  NECROSIS =        1   si
        49,80           1096     22  NECROSIS =        2   no
                                 --
                                 81  Total

          U            W            Z       2-Tailed P
       455,5        2225,5      -2,2003         ,0278
```

TABLA 21B: CORRELACION ENTRE LA VARIABLES GFAP Y NECROSIS

```
- - -  S P E A R M A N   C O R R E L A T I O N   C O E F F I C I E N T S  - - -

PGFA          -,2460
            N(   81)
            Sig ,027

              NECRO
                 *
(Coefficient / (Cases) / 2-tailed Significance)

" , " is printed if a coefficient cannot be computed
```

TABLA 22A: ACTIVIDAD PROLIFERATIVA (Ki-67) EN TUMORES CON Y SIN NECROSIS

```
- - - - - Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

    KI_67
  by NECROSIS  necrosis .

    Mean Rank     Sum of Ranks  Cases
        44,01           2597     59  NECROSIS =        1   si
        32,93          724,5     22  NECROSIS =        2   no
                                 --
                                 81  Total

          U            W            Z       2-Tailed P
       471,5        724,5      -1,8861         ,0593
```

TABLA 22B: CORRELACION ENTRE LAS VARIABLES Ki-67 Y NECROSIS

```
--- S P E A R M A N   C O R R E L A T I O N   C O E F F I C I E N T S ---

NECROSIS          ,2109
             N(    81)
             Sig ,059

                KI_67

(Coefficient / (Cases) / 2-tailed Significance)

" , " is printed if a coefficient cannot be computed
```

Por último, los tumores con presencia de celularidad isomorfa expresan menor GFAP ($p<0,05$, Tabla 23) que el resto de la serie tumoral. Y en el conjunto de tumores estudiados, comprobamos una débil correlación entre los fenómenos de necrosis y angiogénesis ($\rho=0,39$, $p<0,05$ Tabla 24).

TABLA 23: DIFERENCIACION TUMORAL (GFAP) EN TUMORES CON PRESENCIA Y AUSENCIA DE CELULARIDAD ISOMORFA

```
- - - - - Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

    GFAP       gfap
 by C_PEQ      c_peq    .

    Mean Rank     Sum of Ranks  Cases
        29,39          529,0     18  C_PEQ    =     1   si
        44,32           2792     63  C_PEQ    =     2   no
                                 --
                                 81  Total

          U             W             Z       2-Tailed P
       358,0         529,0       -2,5426         ,0110
```

TABLA 24: CORRELACION ENTRE LAS VARIABLES VASCULARIZACION Y NECROSIS

```
--- S P E A R M A N   C O R R E L A T I O N   C O E F F I C I E N T S ---

VASC              ,3962
             N(    81)
             Sig ,000

                NECRO

(Coefficient / (Cases) / 2-tailed Significance)

" , " is printed if a coefficient cannot be computed
```

El análisis multivariante pone de manifiesto que las únicas variables con significación pronóstica independiente son la expresión de GFAP y la expresión de Ki-67 ($p<0,05$, Tabla 25); basadas ambas en la cuantificación de la expresión de marcadores celulares. Resultando ser la variable Ki67 el principal factor pronóstico de entre todas ellas (Tabla 26).

TABLA 25A: ANALISIS MULTIVARIANTE.

REGRESION DE COX

Beginning Block Number 1. Method: Enter

Variable(s) Entered at Step Number 1..
EDAD
SEXO
NECROSIS
VASC
GFAP
KI_67

Coefficients converged after 4 iterations.

-2 Log Likelihood 539,445

	Chi-Square	df	Sig
Overall (score)	31,460	7	,0001
Change (-2LL) from			
Previous Block	30,023	7	,0001
Previous Step	30,023	7	,0001

---------- Variables in the Equation ----------

Variable	B	S.E.	Wald	df	Sig	R	Exp(B)
EDAD	,0110	,0088	1,5390	1	,2148	,0000	1,0110
SEXO	-,1897	,1302	2,1234	1	,1451	-,0147	,8272
NECROSIS	-,0684	,1711	,1600	1	,6892	,0000	,9338
VASC	,2621	,1367	3,6733	1	,0553	,0542	1,2996
GFAP			6,1220	2	,0468	,0610	
GFAP(1)	,3855	,2226	2,9998	1	,0833	,0419	1,4703
GFAP(2)	,1128	,1686	,4475	1	,5035	,0000	1,1194
KI_67	,0281	,0124	5,0996	1	,0239	,0738	1,0285

TABLA 25B: ANALISIS MULTIVARIANTE.

REGRESION DE COX

------Model if Term Removed------
Based on conditional coefficients

Term Removed	Loss Chi-square	df	Sig
VASC	3,5643	1	,0590
GFAP	7,1017	2	,0287
KI_67	3,9810	1	,0460

No more variables can be added or deleted.

TABLA 26: ANALISIS MULTIVARIANTE.

REGRESION DE COX

Dependent Variable: SUPERV

Events	Censored
81	0 (0%)

Beginning Block Number 0. Initial Log Likelihood Function

-2 Log Likelihood 569,468

---------- Variables not in the Equation ----------
Residual Chi Square = 31,46 with 7 df Sig = ,0001

Variable	Score	df	Sig	R
EDAD	1,8807	1	,1703	,0000
SEXO	3,4873	1	,0618	,0511
NECROSIS	5,3587	1	,0206	,0768
VASC	6,1021	1	,0135	,0849
GFAP	16,6414	2	,0002	,1490
GFAP(1)	16,3412	1	,0001	,1587
GFAP(2)	5,7806	1	,0162	,0815
KI_67	18,6603	1	,0000	,1710

Beginning Block Number 1. Method: Forward Stepwise (Conditional LR)

Variable(s) Entered at Step Number 1..
KI_67

Coefficients converged after 4 iterations.

-2 Log Likelihood 553,044

	Chi-Square	df	Sig
Overall (score)	18,660	1	,0000
Change (-2LL) from			
Previous Block	16,424	1	,0001
Previous Step	16,424	1	,0001

---------- Variables in the Equation ----------

Variable	B	S.E.	Wald	df	Sig	R	Exp(B)
KI_67	,0430	,0102	17,8339	1	,0000	,1667	1,0439

---------- Variables not in the Equation ----------
Residual Chi Square = 13,45 with 6 df Sig = ,0364

Variable	Score	df	Sig	R
EDAD	,9339	1	,3338	,0000
SEXO	3,4915	1	,0617	,0512
NECROSIS	1,6210	1	,2029	,0000
VASC	2,6446	1	,1039	,0336
GFAP	5,9293	2	,0516	,0582
GFAP(1)	5,4740	1	,0193	,0781
GFAP(2)	3,9110	1	,0480	,0579

------Model if Term Removed------
Based on conditional coefficients

Term Removed	Loss Chi-square	df	Sig
KI_67	16,4237	1	,0001

No more variables can be added or deleted.

3. MODELO DE CLASIFICACION PRONOSTICA BASADO EN LA EXPRESION DE MARCADORES CELULARES:

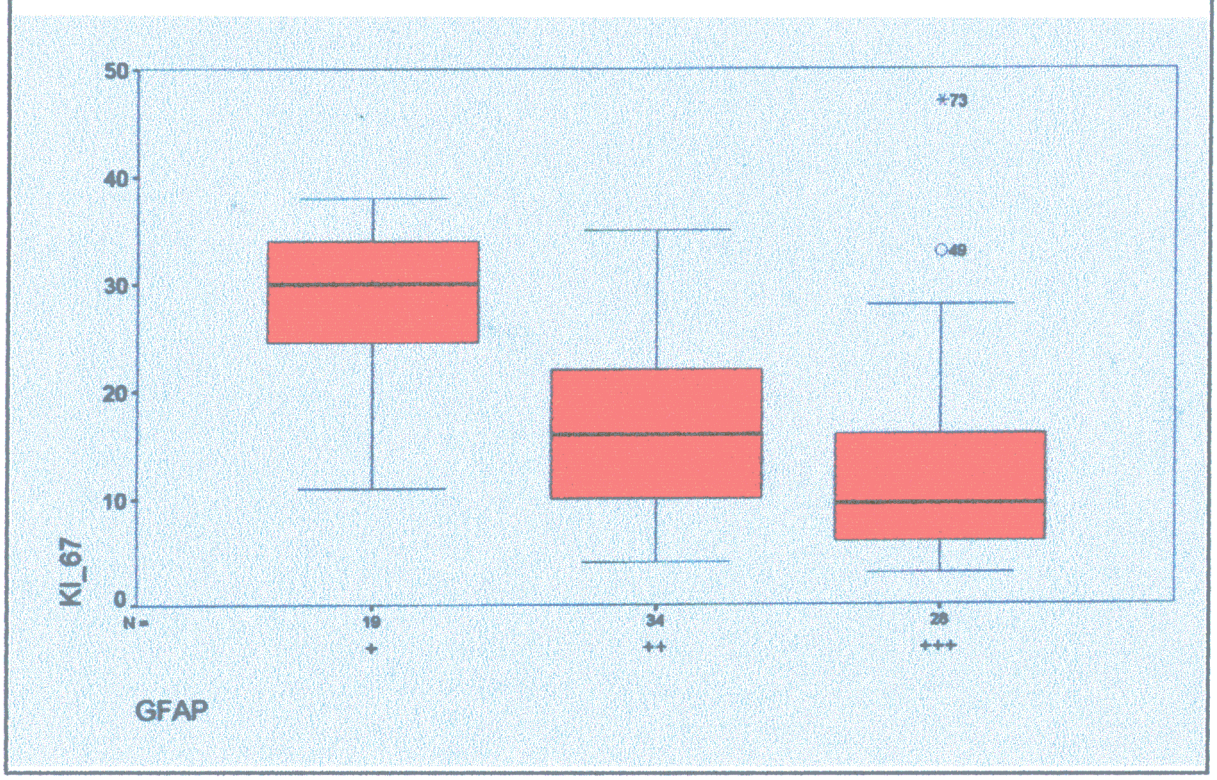
El estudio de marcadores celulares de proliferación y diferenciación, mediante la cuantificación de la expresión de las proteinas celulares Ki-67 y GFAP respectivamente, permite obtener unos valores con significación pronóstica independiente, en los pacientes con tumores Astrocíticos Malignos. La variable con mayor valor pronóstico es la expresión de Ki-67IP (Tabla 26). Por lo que es la primera variable en la que basamos la Clasificación Pronóstica.

La diferencia de supervivencia entre dos grupos de pacientes, en la variable expresión de Ki-67IP, alcanza su máxima significación estadística (p=0,0000; test Log Rank) para aquellos grupos definidos a ambos lados de su valor mediano (valor 16). Este valor constituye por lo tanto el «punto de corte» de la variable contínua Ki-67IP, cuya validez pronóstica nos servirá de aplicación en la gradación tumoral.

Sin embargo, el valor mediano no es el único valor de la variable que permite establecer grupos pronósticos. Este hecho nos conduce a construir el modelo de gradación pronóstica basándonos en la asociación de otra variable a la Ki-67IP. La variable elegida ha sido la expresión de GFAP, por ser una variable con significación pronóstica independiente (Tabla 25) y mostrar correlación significativa e inversa con la Ki-67IP (Tabla 20; Graf. 15).

Gráfico 15

EXPRESION GFAP TUMORAL EN RELACION A SU ACTIVIDAD PROLIFERATIVA (Ki-67 IP)



En el diagrama de cajas (Graf. 15) puede observarse, en primer lugar, la correlación inversa entre los valores de GFAP y de Ki-67IP. Sólamente se identifican dos casos de tumores con expresión GFAP+ con un índice proliferativo por debajo del valor mediano de Ki-67IP (valor 16). Este grupo muestra unos valores proliferativos medio y mediano de 30 y 28 respectivamente, con valores de 24 para el percentil 25, y 34 para el percentil 75.

En el grupo de tumores con expresión GFAP++ el valor medio de Ki-67IP es 17 y el valor mediano 16 (al igual que el valor mediano de la Serie); con valores de 10 para el percentil 25, y 22 para el percentil 75. En el grupo de tumores con expresión GFAP+++ el valor medio de Ki-67IP es 12 y el mediano 9; con valor 6 para el percentil 25, y 16 para el percentil 75. Si bien, en este grupo el rango es amplio con valores extremos de 3 y 47; no mostrando distribución normal la variable Ki-67IP dentro de este gupo de tumores GFAP+++ (p=0,0021, K-S Lilliefors).

De manera que en el grupo GFAP+++, el 75% de los casos muestran un índice proliferativo menor que el valor mediano (valor 16); en el grupo GFAP++, el 50% se encuentran por debajo del valor mediano; y en el grupo de tumores GFAP+, sólo dos valores extremos se encuentran por debajo del valor mediano de Ki-67IP.

La expresión de GFAP tiene significación pronóstica no sólo en el conjunto de la Serie (Tabla 14), sino que además podemos encontrar diferencias significativas de supervivencia entre sus diferentes estratos (grupos: +/++, y ++/+++)($p<0,05$, test Log Rank; Tabla 27).

TABLA 27: ESTUDIO SUPERVIVENCIA POR NIVELES DE GFAP

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP ++/+++

	Statistic	df	Significance
Log Rank	7,73	1	,0054

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP +/++

	Statistic	df	Significance
Log Rank	4,09	1	,0431

Sin embargo, los pacientes con tumores cuyo índice proliferativo se encuentra por encima de su valor mediano, no muestran diferencias significativas de supervivencia cualquiera que sea el valor de la expresión de GFAP (p>0,05; Tabla 28).

TABLA 28: ESTUDIO SUPERVIVENCIA PARA LA VARIABLE GFAP POR NIVELES DE Ki-67 SUPERIORES E INFERIORES A 16

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP
For KI16 = <16

	Statistic	df	Significance
Log Rank	13,82	2	,0010

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP
For KI16 = =,>16

	Statistic	df	Significance
Log Rank	1,96	2	,3761

Por debajo del valor mediano sí se mantiene la significación pronóstica entre los valores de expresión de GFAP (p<0,05; Tabla 28); siendo esta diferencia entre los tumores GFAP+ respecto a los GFAP++/GFAP+++, pues no existen diferencias de supervivencia entre pacientes con tumores GFAP++ y GFAP+++ cuyo Ki-67IP es inferior al valor mediano (p>0,05; Tabla 29).

Podemos comprobar igualmente diferencias de supervivencia entre pacientes con tumores GFAP+++ ó GFAP++ por encima y debajo del valor mediano de Ki-67IP (p<0,05; Tabla 30). Pero en los pacientes con tumores escasamente diferenciados (GFAP+), el tiempo de supervivencia no muestra diferencias con significación estadística, en relación al valor mediano de Ki-67IP (p>0,05; Tabla 30); y tampoco con los demás casos con Ki-67IP superior al mediano (Tabla 28).

Por lo tanto, en el grado III, con mejor pronóstico, se encontrarán los tumores GFAP++ y GFAP+++ con expresión de Ki-67IP menor de su valor mediano (valor 16). Y en el grado IV, con peor pronóstico, se encontrarán los tumores con expresión de Ki-67IP igual o mayor al valor 16 (valor mediano) y aquellos que aún teniendo una expresión de Ki-67IP inferior al valor mediano, muestren una expresión GFAP+.

TABLA 29A: ESTUDIO SUPERVIVENCIA EN TUMORES GFAP ++/+++ CON ACTIVIDAD PROLIFERATIVA Ki-67<16

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP ++/+++
For KI16 = <16

	Statistic	df	Significance
Log Rank	3,18	1	,0748

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP ++/+++
For KI16 = =,>16

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,96	1	,3278

TABLA 29B: ESTUDIO SUPERVIVENCIA EN TUMORES GFAP +/++ CON ACTIVIDAD PROLIFERATIVA Ki-67<16

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP +/++
For KI16 = <16

	Statistic	df	Significance
Log Rank	4,66	1	,0309

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for GFAP +/++
For KI16 = =,>16

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,35	1	,5556

TABLA 30: ESTUDIO SUPERVIVENCIA PARA LA VARIABLE Ki-67 EN SUS VALORES MAYOR Y MENOR DE 16 POR NIVELES DE GFAP

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for KI16
For GFAP = +

	Statistic	df	Significance
Log Rank	,00	1	,9592

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for KI16
For GFAP = ++

	Statistic	df	Significance
Log Rank	6,60	1	,0102

Test Statistics for Equality of Survival Distributions for KI16
For GFAP = +++

	Statistic	df	Significance
Log Rank	4,89	1	,0270

4. SISTEMAS DE CLASIFICACION PRONOSTICA:

En la tabla de frecuencias (Anexo 1) se exponen las diversas variables estudiadas, y los casos definidos como grado III y grado IV, mediante los Sistemas de Clasificación de la OMS. y del Sistema Ki-67IP/GFAP que proponemos.

En la Serie de 81 casos que hemos estudiado, la supervivencia media de los pacientes con tumores Astrocíticos Malignos, clasificados mediante el método de la OMS ha sido de 12 y 8 meses para los grados III y IV respectivamente (Tabla 31). Parecida supervivencia hemos observado en los grupos definidos mediante el sistema construido «Ki-67IP/GFAP», con unos tiempos medios de supervivencia de 12 y 7 meses también para los grados III y IV por él definido (Tabla 31).

TABLA 31: SUPERVIVENCIA SEGUN LOS GRADOS TUMORALES DEFINIDOS POR LOS SISTEMAS DE CLASIFICACION OMS Y Ki-67/GFAP (TESIS)

SISTEMAS	OMS		TESIS	
GRADOS	AA	GB	AA	GB
NUMERO	18	63	37	44
MEDIA	12	8	12,5	7
MEDIANA	11	8	11	6
LOG RANK	0,0066		0,0000	

1.- *La supervivencia de los pacientes viene referida en meses.*
2.- *AA: Astrocitoma Anaplásico (Astrocitoma grado 3)*
GB: Glioblastoma (Astrocitoma grado 4)

Las diferencias observadas en la supervivencia entre los dos grupos de pacientes, definidos por los dos Sistemas evaluados, muestran significación estadística ($p<0,05$; Tabla 31) en ambos casos; si bien las curvas de la función de supervivencia (Graf. 16) muestran mayores diferencias entre los dos grupos definidos por el sistema «Ki-67IP/GFAP» (Tesis), que entre los dos grupos definidos por el sistema OMS.

En este mismo sentido podemos comprobar la mayor capacidad discriminante (Tabla 32) del «nuevo sistema» para clasificar en dos grupos pronósticos la serie de tumores estudiados.

Gráfico 16A

CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE KAPLAN Y MEIER. SISTEMA OMS

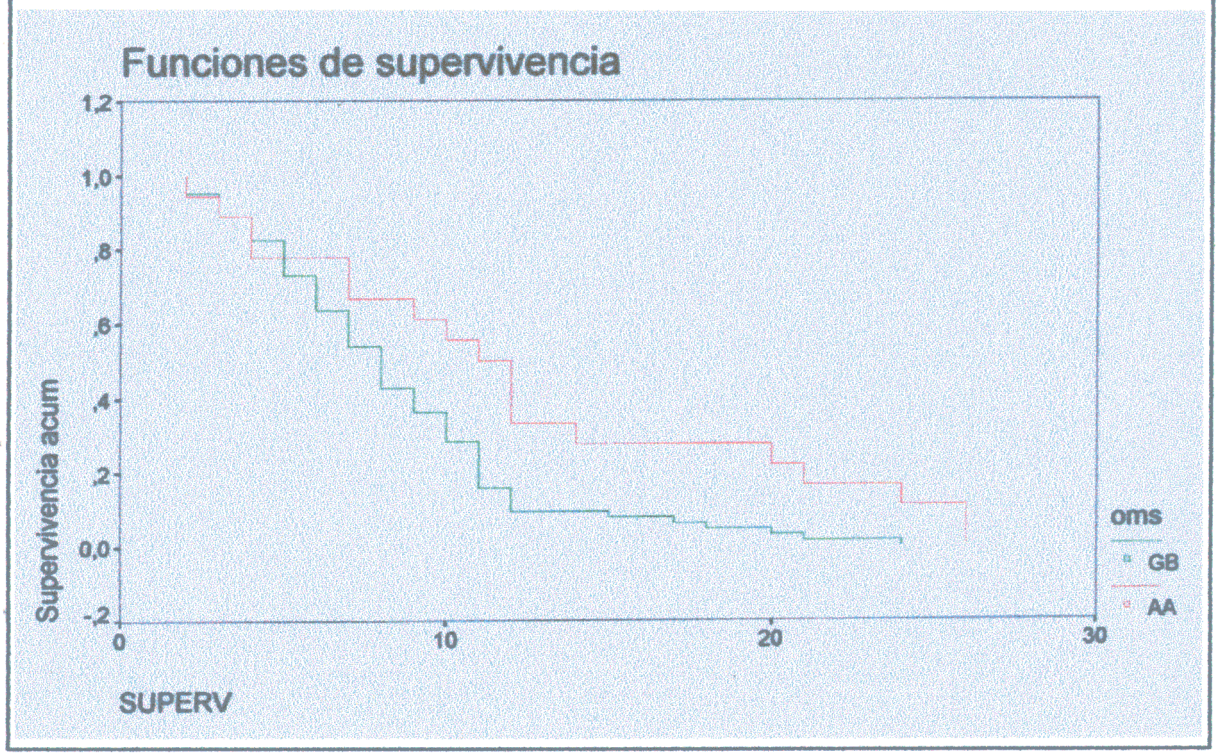


Gráfico 16B

CURVAS DE SUPERVIVENCIA DE KAPLAN Y MEIER. SISTEMA Ki-67/GFAP (TESIS)

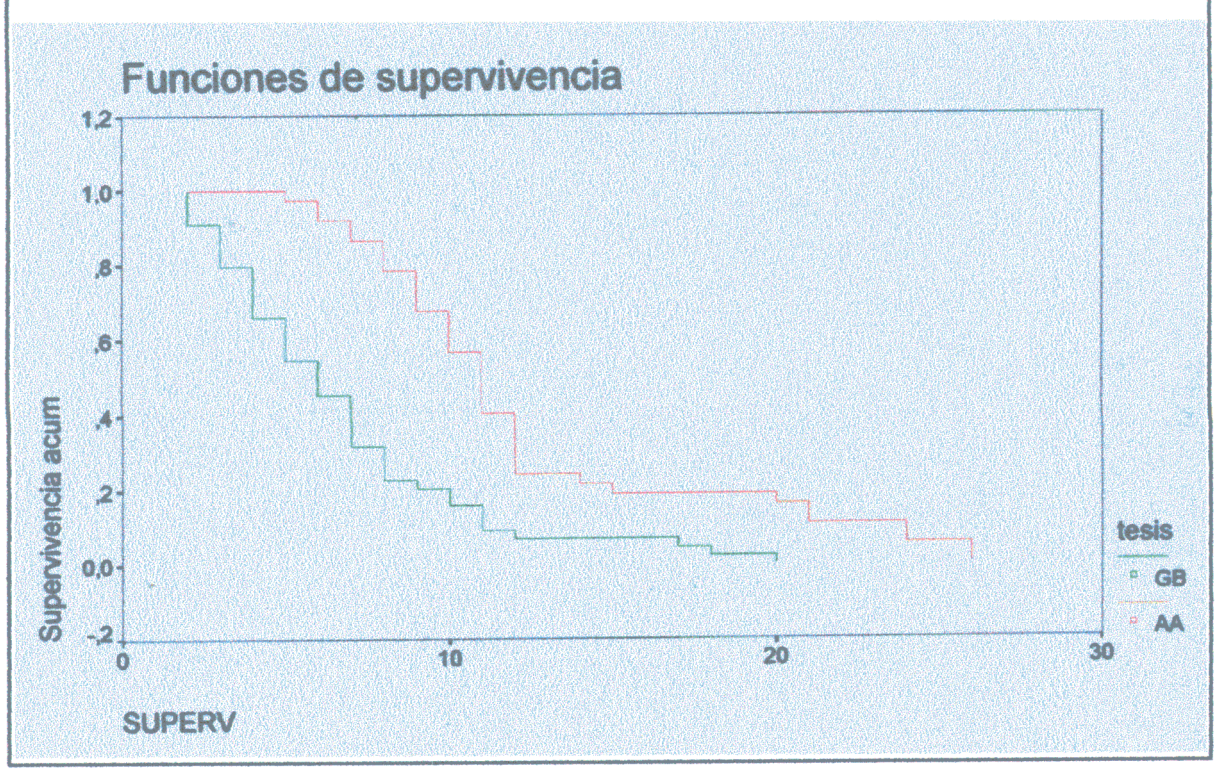


TABLA 32: COMPARACION DE LA CAPACIDAD DISCRIMINANTE DE LOS SISTEMAS DE CLASIFICACION

Pooled within-groups covariance matrix with 79 degrees of freedom

	OMS	TESIS
OMS	,1703	
TESIS	,0371	,1761

Pooled within-groups correlation matrix

	OMS	TESIS
OMS	1,00000	
TESIS	,21449	1,00000

Wilks' Lambda (U-statistic) and univariate F-ratio with 1 and 79 degrees of freedom

Variable	Wilks' Lambda	F	Significance
OMS	,96075	3,2271	,0763
TESIS	,69219	35,1311	,0000

Prueba Lambda de Wilks

De manera que, mientras la aplicación del sistema OMS nos clasifica adecuadamente, desde el punto de vista pronóstico (supervivencia de los pacientes), el 59% de los casos, alcanzamos el 77% tras la aplicación del sistema que proponemos (Tabla 33; Graf. 17).

Estos porcentajes hacen referencia a la relación entre los valores teóricos esperados del tiempo de supervivencia de los pacientes, según el grado histológico tumoral (en dependencia del Sistema de Clasificación aplicado), y los valores observados para cada caso.

En el diagrama de dispersión de la supervivencia por grupos (grados) histológicos (Graf. 18), puede destacarse la polarización de Glioblastomas y Astrocitomas Anaplásicos en los valores extremos de supervivencia, con solapamiento en torno al valor medio, en la clasificación «Ki-67IP/GFAP»; mientras que en la clasificación OMS los dos grupos tumorales aparecen más entremezclados.

Estos hechos pueden evidenciarse mejor agrupando los casos a ambos lados del valor mediano de la supervivencia (8 meses) (Graf. 19): encontrando en la línea de mejor pronóstico la mayoría de Astrocitomas Anaplásicos y en la de peor pronóstico a los Glioblastomas, tras la aplicación del sistema «Ki-67IP/GFAP». En la clasificación por el método OMS, los dos grados tumorales aparecen distribuidos en las dos líneas pronósticas.

TABLA 33A: CAPACIDAD DISCRIMINANTE DEL SISTEMA OMS

- - - - - - - - D I S C R I M I N A N T A N A L Y S I S - - - - -

Number of cases by group

SUPERV2	Number of cases Unweighted	Weighted	Label
1	42	42,0	=<8
2	39	39,0	>8
Total	81	81,0	

Classification results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership 1	2
Group 1 =<8	42	36 85,7%	6 14,3%
Group 2 >8	39	27 69,2%	12 30,8%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 59,26%

Gráfico 17A

HISTOGRAMA DEL ANALISIS DISCRIMINANTE. SISTEMA OMS

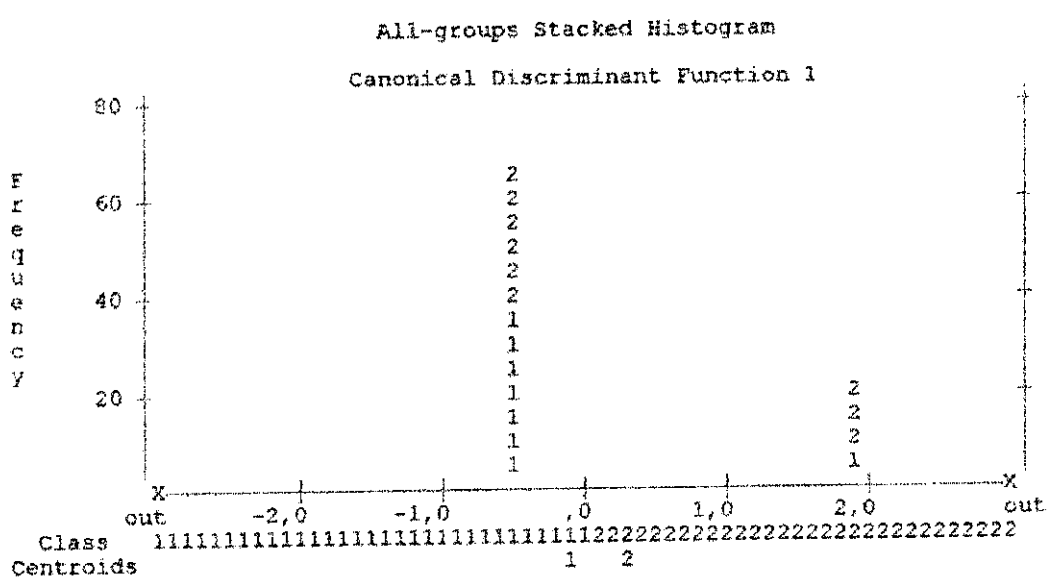


TABLA 33B: CAPACIDAD DISCRIMINANTE DEL SISTEMA Ki-67/GFAP (TESIS)

- - - - - - - - - D I S C R I M I N A N T A N A L Y S I S - - - - -

Number of cases by group

SUPERV2	Number of cases Unweighted	Weighted	Label
1	42	42,0	=<8
2	39	39,0	>8
Total	81	81,0	

Classification results -

Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership 1	2
Group 1 =<8	42	34 81,0%	8 19,0%
Group 2 >8	39	10 25,6%	29 74,4%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 77,78%

Gráfico 17B

HISTOGRAMA DEL ANALISIS DISCRIMINANTE. SISTEMA Ki-67/GFAP (TESIS)

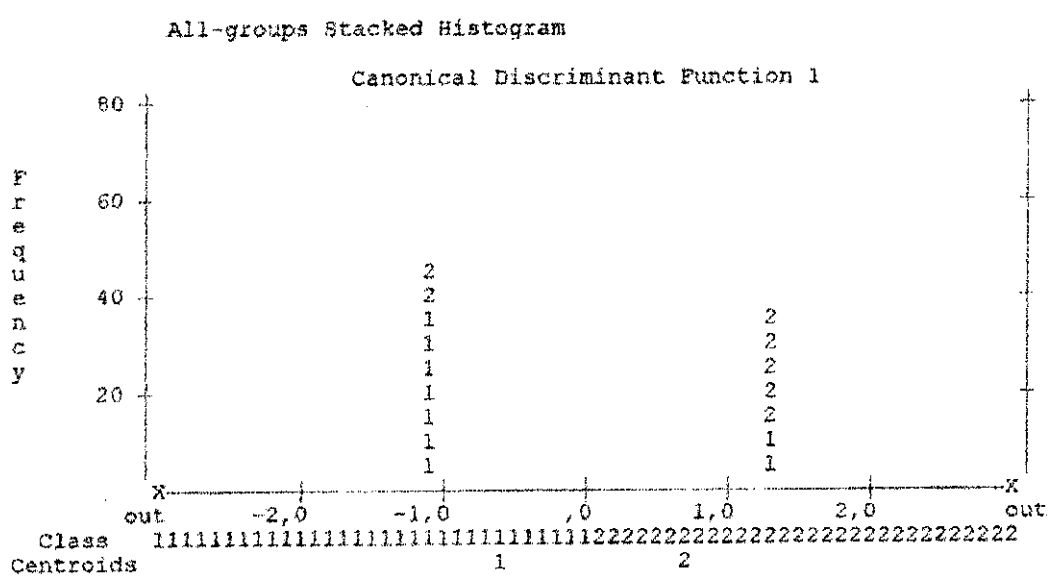


Gráfico 18A

DIAGRAMA DE DISPERSION POR GRADOS SEGUN EL TIEMPO DE SUPERVIVENCIA Y EDAD. SISTEMA OMS

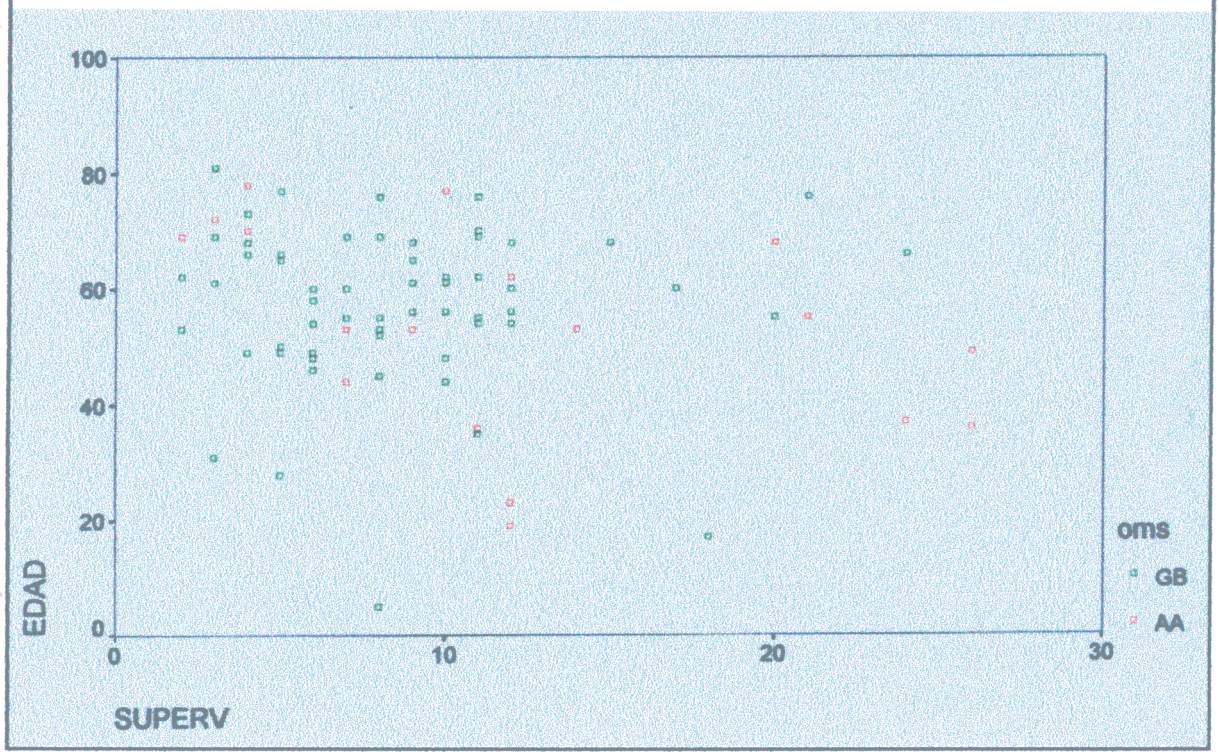


Gráfico 18B

DIAGRAMA DE DISPERSION POR GRADOS SEGUN EL TIEMPO DE SUPERVIVENCIA Y EDAD. SISTEMA Ki-67/GFAP (TESIS)

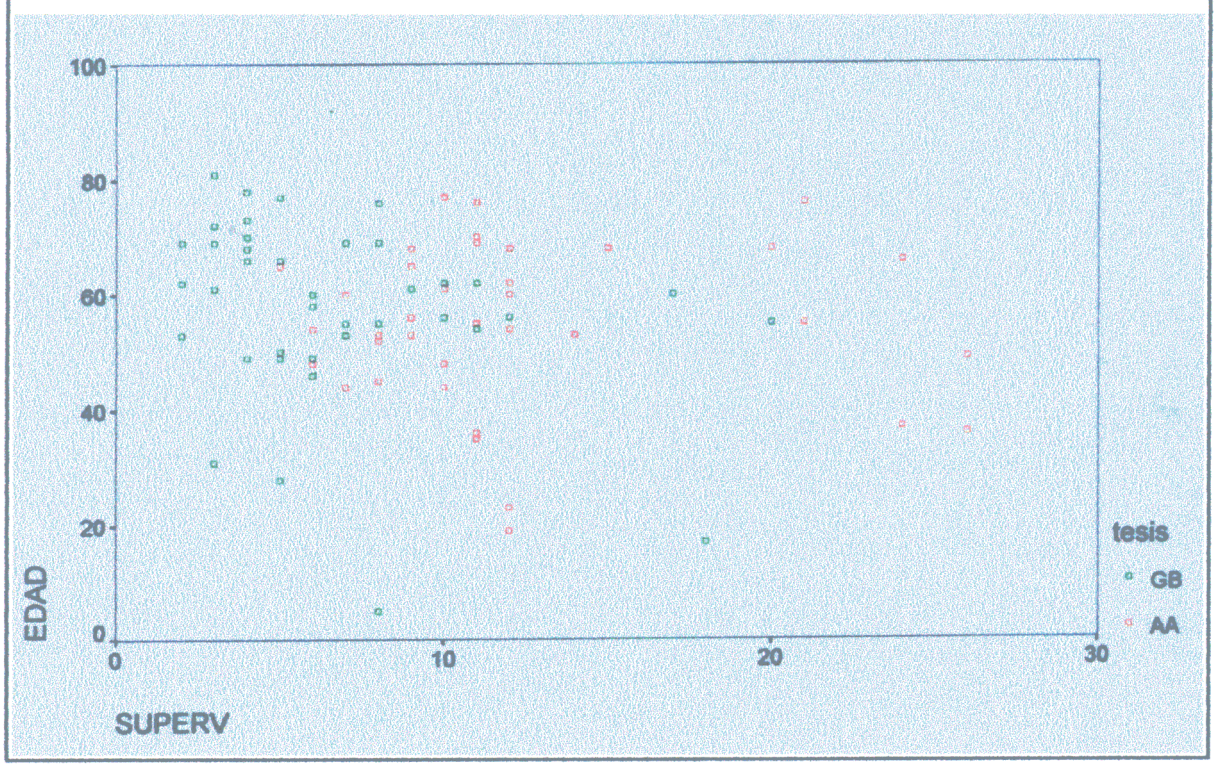


Gráfico 19A

DISPERSION GRADOS TUMORALES POR INTERVALOS DE EDAD Y VALOR MEDIANO DEL TIEMPO DE SUPERVIVENCIA. SISTEMA OMS

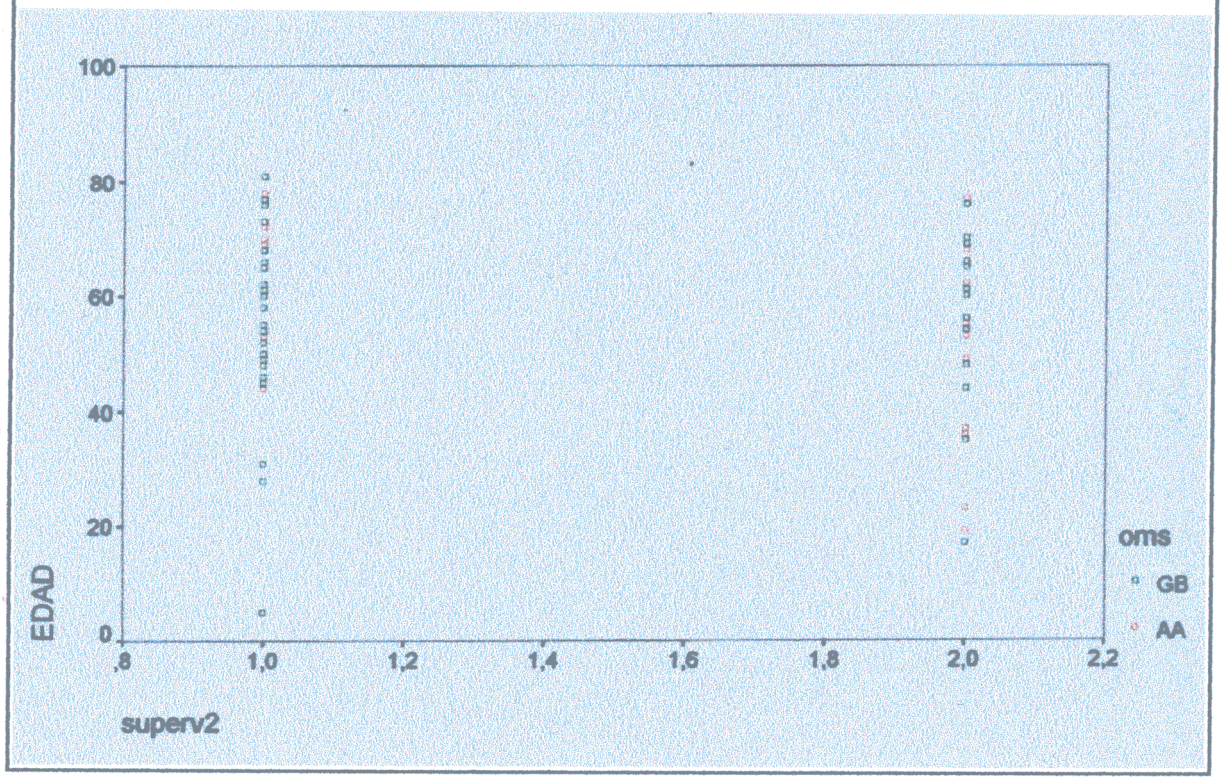
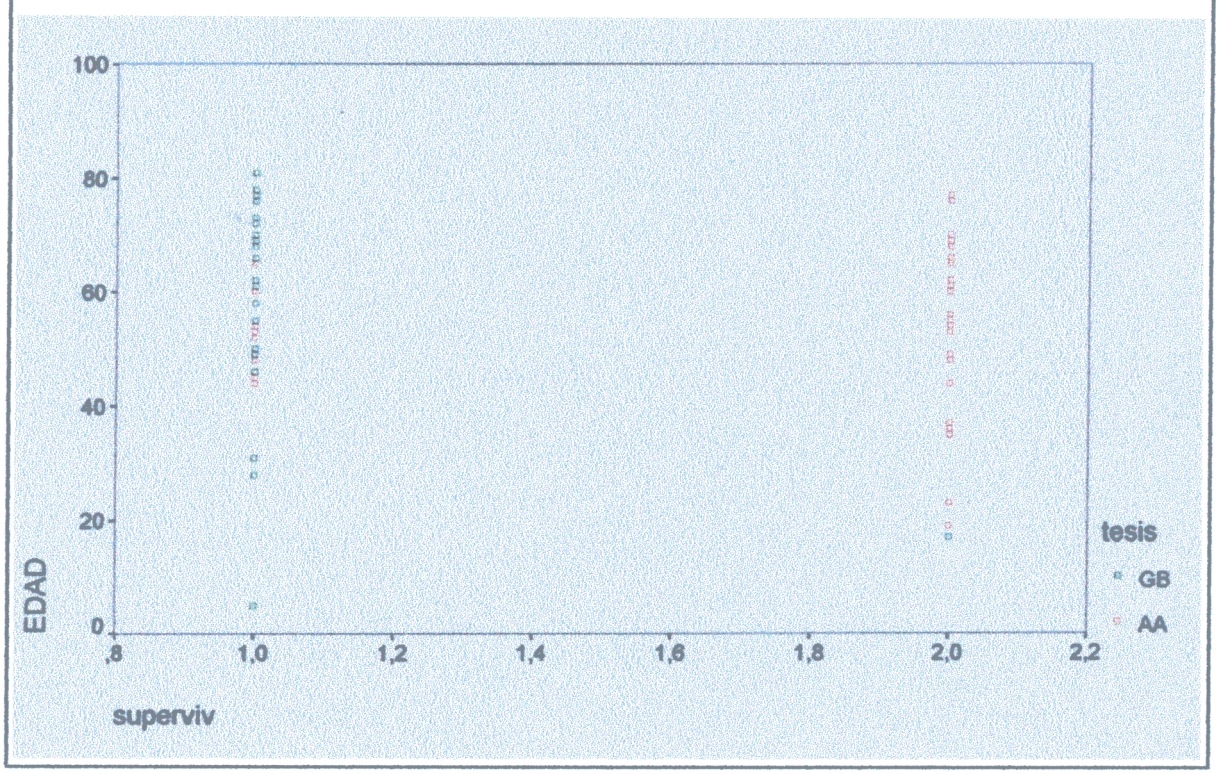


Gráfico 19B

DISPERSION GRADOS TUMORALES POR INTERVALOS DE EDAD Y VALOR MEDIANO DEL TIEMPO DE SUPERVIVENCIA. SISTEMA Ki-67/GFAP (TESIS)



En la Clasificación pronóstica de la OMS, el grupo de pacientes con Glioblastoma así definido, ha mostrado una edad media de 57 años; mayor frecuencia de presentación en hombres, en relación aproximada de 3:1; afectación de cualquier lóbulo cerebral, sin destacadas diferencias; extensión en todos los estadios, con un 18% de afectación profunda; un Ki-67IP medio de 19%; y expresión de GFAP en todos los patrones: 25% con GFAP+, 46% con GFAP++, y 29% con GFAP+++.

Y el grupo de pacientes con Astrocitoma Anaplásico mostraron una edad media de 53 años; mayor frecuencia de presentación en hombres, en relación 3:1; afectación de cualquier lóbulo cerebral; extensión en todos los estadios, con un 12% de afectación profunda; un Ki-67IP medio de 13%; y expresión de GFAP en todos los patrones: 17% con GFAP+, 28% con GFAP++, y 55% con GFAP+++.

Las diferencias observadas en las variables edad, sexo, estado clínico, localización, extensión, y diferenciación celular, entre ambos grupos tumorales, carecen de significación estadística ($p>0,05$; test U Mann-Whitney). Sólamente encontramos significación en la actividad proliferativa (Ki-67IP) observada entre ambos grupos tumorales ($p=0,0141$, test U Mann-Whitney), además de la presencia o ausencia de necrosis y/o vascularización que los define. La actividad proliferativa tumoral guarda una discreta correlación con el grado histológico (Tabla 34).

TABLA 34: CORRELACION DE LAS VARIABLES Ki-67 Y GFAP CON EL GRADO TUMORAL. SISTEMA OMS

```
- - -  S P E A R M A N   C O R R E L A T I O N   C O E F F I C I E N T S  - -

KI_67            ,2745
              N(    81)
              Sig ,013

                   OMS

(Coefficient / (Cases) / 2-tailed Significance)

" , " is printed if a coefficient cannot be computed


- - -  S P E A R M A N   C O R R E L A T I O N   C O E F F I C I E N T S  -

GFAP            -,2033
              N(    81)
              Sig ,069

                   OMS

(Coefficient / (Cases) / 2-tailed Significance)

" , " is printed if a coefficient cannot be computed
```

En el Sistema propuesto «Ki-67IP/GFAP», el grupo de pacientes con Glioblastoma ha mostrado una edad media de 57 años; mayor frecuencia de presentación en hombres, en relación 2:1; un estado clínico prequirúrgico sin predominio de ningún rango; localización similar en todos los lóbulos; y una extensión en la que destaca el estadio T1 (50% de los tumores); observándose afectación profunda en torno al 18% de los casos.

En este grupo, hemos identificado necrosis en 36 (82%) de los casos, e hiperplasia endotelial en 25 (57%) de los casos. El Ki-67IP medio ha sido 26% de células en mitosis, con rango comprendido entre 11 y 47. La expresión de GFAP: 19 (43%) casos con expresión GFAP+, 18 (41%) casos con GFAP++, y 7 (16%) con GFAP+++. El 90,9% de los pacientes no sobrepasó el año de vida (Tabla 35).

Y en el grupo de pacientes con Astrocitoma Anaplásico la edad media fué de 55 años; observándose una mayor frecuencia de presentación en hombres, en relación 3:1; el estado clínico prequirúrgico no ha mostrado predominio de ningún rango; la localización ha implicado a cualquier lóbulo; y la extensión tumoral comprede cualquier estadío, con un 13,5% de afectación profunda.

En este grupo, hemos identificado necrosis en 23 (62%) de los casos; e hiperplasia endotelial vascular en 16 (43%) de los casos. El Ki-67IP medio ha sido 8% de células en mitosis, con un rango comprendido entre 3 y 15. La expresión de GFAP encontrada ha sido: 16 (43%) de tumores con expresión GFAP++, y 21 (57%) con GFAP+++. El 59,5% de los pacientes no sobrepasaron el año de vida; y por el contrario, un 11% de los pacientes sobrepasaron los dos años de vida (Tabla 35).

TABLA 35A: FRECUENCIAS DE LA SUPERVIVENCIA OBSERVADA EN EL GRADO 4 (SISTEMA Ki-67/GFAP)

SUPERV

Value Label	Value	Frequency	Percent	Valid Percent	Cum Percent
	2	4	9,1	9,1	9,1
	3	5	11,4	11,4	20,5
	4	6	13,6	13,6	34,1
	5	5	11,4	11,4	45,5
	6	4	9,1	9,1	54,5
	7	6	13,6	13,6	68,2
	8	4	9,1	9,1	77,3
	9	1	2,3	2,3	79,5
	10	2	4,5	4,5	84,1
	11	3	6,8	6,8	90,9
	12	1	2,3	2,3	93,2
	17	1	2,3	2,3	95,5
	18	1	2,3	2,3	97,7
	20	1	2,3	2,3	100,0
	Total	44	100,0	100,0	

TABLA 35B: FRECUENCIAS DE LA SUPERVIVENCIA OBSERVADA EN EL GRADO 3 (SISTEMA Ki-67/GFAP)

SUPERV

Value Label	Value	Frequency	Percent	Valid Percent	Cum Percent
	5	1	2,7	2,7	2,7
	6	2	5,4	5,4	8,1
	7	2	5,4	5,4	13,5
	8	3	8,1	8,1	21,6
	9	4	10,8	10,8	32,4
	10	4	10,8	10,8	43,2
	11	6	16,2	16,2	59,5
	12	6	16,2	16,2	75,7
	14	1	2,7	2,7	78,4
	15	1	2,7	2,7	81,1
	20	1	2,7	2,7	83,8
	21	2	5,4	5,4	89,2
	24	2	5,4	5,4	94,6
	26	2	5,4	5,4	100,0
	Total	37	100,0	100,0	

Las diferencias observadas en las diversas variables estudiadas, para los grados III y IV definidos por el sistema de marcadores celulares de proliferación y diferenciación («Ki-67IP/GFAP»), no han mostrado significación estadística, a excepción de la presencia de necrosis (p=0,049; test U Mann-Whitney); y de las variables Ki-67 y GFAP que los han definido.

Ambos Sistemas de Clasificación, valorados en el presente trabajo: OMS (necrosis/angiogénesis) y Tesis (Ki-67IP/GFAP), se basan en la fisiopatiología de la oncogénesis tumoral y han mostrado en la serie de pacientes estudiados validez predictiva (Tabla 31). Sin embargo clasifican de manera diferente los grados tumorales, observándose sólamente una débil concordancia entre ambos (coef. 0,24; Tabla 36).

Si queremos valorar la sensibilidad y especificidad que tendría la identificación de necrosis y/o angiogénesis tumorales, respecto al grado IV (Glioblastoma) definido por el Sistema Ki-67IP/GFAP, encontraríamos una sensibilidad S=39/44=88% y una especificidad E=13/37=35%. De manera que habría tan sólo un 12% de falsos negativos, pero un 65% de falsos positivos, respecto a la definición del Astrocitoma Grado IV que proponemos, basado en diferenciación de la célula tumoral astrocítica y su actividad proliferativa.

TABLA 36: CONCORDANCIA DE LOS SISTEMAS OMS Y Ki-67/GFAP (TESIS)

TESIS teais by OMS oms

Page 1 of 1

TESIS	Count / Row Pct / Col Pct / Tot Pct	OMS GB 1	OMS AA 2	Row Total
GB	1	39 88,6 61,9 48,1	5 11,4 27,8 6,2	44 54,3
AA	2	24 64,9 38,1 29,6	13 35,1 72,2 16,0	37 45,7
	Column Total	63 77,8	18 22,2	81 100,0

Statistic	Value	ASE1	Val/ASE0	Approximate Significance
Kappa	,24784	,09581	2,56342	,01036

Prueba de Kappa

ABRIR DISCUSIÓN